LARGE BOOKS
/VIA

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
12 JAN 1960

RECHERCHES SUR LES MALADIES DE LA VIGNE

LEVURES & KYSTES

DES GLŒOSPORIUM

PAR

P. VIALA ET P. PACOTTET

IMPERIAL MYCOLOGICAL INSTITUTE
9 JAN 1941

EXTRAIT DES « ANNALES DE L'INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE »
(Tome V, fascicule 1er, 1906)

PARIS
BUREAUX DE LA « REVUE DE VITICULTURE »
1, RUE LE GOFF, 1
1906

RECHERCHES SUR LES MALADIES DE LA VIGNE

LEVURES & KYSTES

DES GLŒOSPORIUM

PAR

P. VIALA ET P. PACOTTET

EXTRAIT DES « ANNALES DE L'INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE »
(Tome V, fascicule 1er, 1906)

PARIS
BUREAUX DE LA « REVUE DE VITICULTURE »
1, RUE LE GOFF, 1
1906

LEVURES ET KYSTES

DES GLŒOSPORIUM

PAR

P. VIALA ET **P. PACOTTET**

MEMBRE DE LA SOCIÉTÉ NATIONALE D'AGRICULTURE
DOCTEUR ÈS SCIENCES
INSPECTEUR GÉNÉRAL DE LA VITICULTURE
PROFESSEUR ET DIRECTEUR DE LA STATION DES RECHERCHES VITICOLES
A L'INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE

INGÉNIEUR AGRONOME
MAITRE DE CONFÉRENCES DE VITICULTURE
A L'ÉCOLE NATIONALE D'AGRICULTURE DE GRIGNON
CHEF DES TRAVAUX DE LA STATION DES RECHERCHES VITICOLES
A L'INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE

I. — INTRODUCTION

Nos études sur l'Anthracnose de la Vigne (*Manginia ampelina*, Viala et Pacottet, ou *Glœosporium ampelophagum* Saccardo), poursuivies dans le vignoble ou dans le laboratoire par cultures artificielles, ont apporté, au point de vue mycologique, des données nouvelles sur la variation et la filiation des formes de reproduction, sur les levures sauvages et sur leur origine (1).

Nos observations demandaient à être vérifiées sur des espèces de Champignons analogues au *Glœosporium* qui produit l'Anthracnose de la Vigne (*Manginia ampelina*). Nous

(1) Sur la culture et le développement du Champignon de l'Anthracnose de la vigne (Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 4 juillet 1904). — Anthracnose I. Sur la culture et le développement de l'Anthracnose (Mémoire avec 2 planches et 9 figures. *Revue de Viticulture*. Tome XXII). — Nouvelles recherches sur l'Anthracnose de la vigne. II : Levures, kystes, formes de reproduction et de conservation du *Manginia ampelina* (Mémoire de 69 pages avec 85 figures dans le texte et 7 planches hors texte, 24 sep-septembre 1905, et *Revue de Viticulture*, 1905-1906.)

avons étendu ces études à quelques autres formes de *Glœosporium* et à des Champignons voisins, tels les *Ascochyta*, qui produisent sur les plantes des altérations tout au moins comparables par les caractères externes. Nous avons dû limiter, pour l'instant, ces recherches toujours très longues et très délicates, à une espèce d'Anthracnose du Platane, plante ligneuse, le *Glœosporium nervisequum* (Fuckel) Saccardo et à une Anthracnose d'une plante herbacée, du Pois, l'*Ascochyta Pisi* Lib., celle-ci choisie surtout parce qu'elle est assez semblable, par les caractères pathologiques, aux *Glœosporium*, et parce qu'elle en est différente par les caractères mycologiques.

Nous laissons à d'autres le soin de vérifier, sur les nombreuses espèces de *Glœosporium*, si les phénomènes, observés pour les Anthracnoses de la Vigne et du Platane, se maintiennent semblables à ceux constatés pour les *G. ampelophagum* (*Manginia ampelina*) et *G. nervisequum*, le soin surtout de rechercher si les kystes et les levures constituent un phénomène général pour ces Champignons, comme semble l'indiquer notre étude de ces deux espèces.

La question présente d'autant plus d'intérêt que de ces observations pourrait, comme nous l'avons dit, résulter une interprétation nouvelle sur l'origine des levures, tout au moins des levures sauvages, et des arguments sur la possibilité d'arriver, par des méthodes analogues, au retour mycélien des levures cultivées. Les essais de cet ordre, à résultats sans doute encore hypothétiques, sont actuellement en cours dans notre laboratoire.

Nos recherches sur l'Anthracnose de la Vigne, en milieux artificiels variés, nous avaient révélé un polymorphisme d'organes de reproduction inconnu pour ce parasite aussi bien que pour les autres *Glœosporium*. Nous les rappellerons en quelques mots, en notant que des observations successives, poursuivies pendant plusieurs années dans le vignoble, nous ont permis de retrouver toutes ces formes

de reproduction dans la nature, soit sur les chancres des sarments, soit sur les fruits anthracnosés.

Le *G. ampelophagum* (ou *Manginia ampelina*), cause de l'Anthracnose de la Vigne, n'était connu, comme organe de reproduction, que par un stroma conidifère à stérigmates porteurs de petites conidies. Cette forme conidifère se retrouve dans les cultures artificielles où elle pousse aux dépens de sclérotes préalablement organisés. Ces sclérotes existent sur les vignes, dans les vieux chancres, et donnent aussi, au printemps, des conidiophores.

Dans les cultures, et rarement dans le vignoble, à la fin de l'automne, les formes de reproduction les plus fréquentes sont des conceptacles de deux types, tous à membrane délicate pourvue d'une ostiole, produisant à l'intérieur, à l'extrémité de fines basides qui tapissent la paroi, de nombreuses spores. Les conceptacles les plus nombreux ont leurs spores absolument semblables aux conidies ordinaires, ce sont les spermogonies; les autres ont des spores plus grosses, plus rondes, ce sont les pycnides; rarement, on trouve une seconde forme de conidiophores à spores en tout semblables à celles des pycnides. Spermogonies et pycnides ne sont en somme que des conidiophores agglomérés et s'entourant d'une membrane plus ou moins complète. Certaines spermogonies, par exemple, sont si largement ouvertes que la membrane n'existe que vers leur base.

Ainsi, les organes les plus fréquents, et nous en avons démontré la filiation et les rapports, sont : *sclérotes* divers, *conidiophores*, *macroconidiophores*, *spermogonies*, *pycnides*, *chlamydospores*.

Parmi les organes de reproduction les plus importants des Champignons, nous n'avons pas encore observé pour le *Glœosporium* de la Vigne la forme à périthèces. C'est pour nous trouver dans des conditions telles, au point de vue de la question levures, que l'argument de l'absence de périthèces ne pût pas être invoqué, que nous avons entrepris l'étude du

Glœosporium du Platane dont la forme à périthèces est connue et a été expérimentalement rapportée à la forme conidifère.

Klebahn, dans un travail récent (1), postérieur aux premières observations que nous avons publiées sur le *G. nervisequum*, a confirmé nos premières données de culture et, ce qui nous intéresse surtout, a démontré nettement les rapports de la forme périthèce avec les autres formes de reproduction.

Outre ces formes de reproduction, généralement connues, que nous venons d'énumérer pour le *Glœosporium* de la Vigne, nous avons obtenu, décrit et figuré pour cette espèce, des formes qui nous intéressent plus spécialement pour le Mémoire actuel : ce sont les *kystes* et les *levures*. Nous ne reviendrons pas sur les détails nombreux et les preuves expérimentales que nous avons données pour démontrer que *kystes* et *levures* dérivent bien des autres organes de reproduction et que ces kystes et levures pouvaient être ramenés aux formes à conidies, à spermogonies ou à pycnides.

Les kystes du *Glœosporium* de la Vigne sont unisporés ou plurisporés, à spores endogènes, comme nous l'a démontré l'étude des noyaux : ils sont à membrane lisse. Ces spores endogènes germent, suivant les milieux, en tubes mycéliens, ou, dans les milieux sucrés, en tubes très variqueux, rappelant l'aspect des levures hautes et se transformant bientôt en levures. Ces levures du *Glœosporium* de la Vigne, obtenues en cultures successives, sur milieux sucrés, aux dépens du mycélium conidien par exemple, bourgeonnent comme des levures ordinaires et se reproduisent ensuite par bourgeonnements successifs ; elles appartiennent aux types des levures sauvages apiculées ou ellipsoïdes, mais plutôt avec caractères des levures apiculées. Elles donnent jusqu'à 1 et 1 1/2 % d'alcool.

A côté de la *cellule bourgeonnante*, nous avons observé

1. Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. Leipzig, 1903.

des *cellules géantes* et des *cellules durables* et, enfin, fait plus important au point de vue physiologique et morphologique, nous avons obtenu, sur milieux appropriés, les spores endogènes (*ascospores*) de ces levures dans les mêmes conditions où se produisent les spores endogènes des levures industrielles les plus actives au point de vue de la fermentation alcoolique.

Cette sporulation pourrait être considérée comme l'analogue, dans les *Glœosporium*, des périthèces d'autres Champignons appartenant, comme eux, aux groupes des Ascomycètes. Mais l'existence des périthèces dans le *Glœosporium nervisequum*, que nous allons étudier, est une preuve du contraire ; et on peut se demander, à la suite de nos recherches, si les ascospores des levures vraies ne sont pas seulement des cas d'enkystement, dans lesquels les phénomènes plus ou moins supposés ou démontrés de la fécondation, par fusion préalable du noyau, seraient ou fort douteux ou interprétés dans un sens inexact.

II. — GLŒOSPORIUM NERVISEQUUM

Nous avons isolé et cultivé le *Glœosporium nervisequum* (Saccardo), cause de l'Anthracnose du Platane, par les mêmes méthodes et dans les même conditions de milieu que le *Glœosporium* de la Vigne (*Manginia ampelina).*

La Maladie du Platane a été étudiée, depuis longtemps, par divers auteurs (1), et tout récemment, comme nous le disions, Klebahn a publié un Mémoire complet sur ce parasite qui confirmait nos observations et indirectement nos recherches sur l'Anthracnose de la Vigne. Ses études, faites dans un but différent du nôtre, n'ont été sans doute ni assez poursuivies ni assez variées pour qu'il ait pu constater les kystes et les levures sur lesquelles son attention n'était pas appelée.

La Maladie du Platane attaque surtout les feuilles et aussi les rameaux vers la fin du printemps et pendant tout l'été, en pénétrant les tissus et en les rongeant comme le font la plupart des *Glœosporium ;* mais, sur les feuilles du platane le *G. nervisequum* n'est pas limité comme celui de l'Antracnose de la Vigne et il se diffuse beaucoup plus rapidement par les nervures. Il fait tomber prématurément les feuilles ; il creuse et noircit les rameaux et, dans les deux cas, de nombreuses pustules brunes se multiplient sur les tissus

(1) H. Klebahn : Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen (Jahrbuch, fur vissenchaft. Botanik. Band XLI, Heft 4, Leipzig, 1905, p. p. 515-560). — E. Prillieux : Maladies des plantes, (T. II, p. 320.) — J. Beauverie : Annales de la Société botanique de Lyon 1901, et Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 22 juillet 1903. — Leclerc du Sablon : Revue générale de botanique, (IV, 1892). — Max. Cornu : Journal de botanique, 1887. — Henri : Revue des Eaux et Forêts, 1887. — Tulasne : Selecta Fungorum Carpologia. III. — Saccardo : Sylloge Fungorum, III. — Massee : A Text-Book of Plant Diseases, 1899. — Mss.-E.-A. Southworth : Journal of Mycology, V, 1889. — F.-V. Tavel : Botanische Zeitung, 1886. — Halsted ; Garden and Forest, 1890. — Frank : Krankheiten der Pflanzen, II, p. 373. — Comes : Crittogamia agraria, (1881, p. 424.) — Sorauer : Pflanzenkrankheiten, (II, p. 424.) — Fuckel : Symbol. mycolog., p. 396; etc.;

altérés en prenant, en leur centre, une teinte rosée analogue à celles des jeunes taches de l'Anthracnose de la Vigne.

Ces pustules (fig. 1) sont le plus souvent des stroma coni-

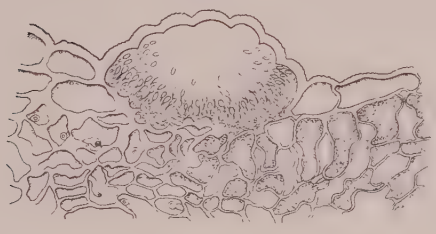

Fig. 1. — Coupe d'une pustule conidifère du *Glœosporium nervisequum* sur feuille de platane (d'après H. Klebahn, G = 260/1).

Fig. 2. — Stroma conidifère avec basides et conidies du *Glœosporium nervisequum* (d'après H. Klebahn, G = 600/1).

difères (décrits par divers auteurs), à fines basides (fig. 2) portant des spores ovoïdes, petites (9 à 13 μ sur 4 à 5 μ), à contenu le plus souvent homogène, et ayant rarement les

Fig. 3. — Coupe d'un conceptacle du *Sporonema Platani*, forme spermogonique du *Glœosporium nervisequum*, sur une feuille de platane (d'après H. Klebahn, G = 160/1).

points réfringents qui sont si caractéristiques, chez les spermaties et les conidies, du *Manginia ampelina*. Ce stroma est en cupules (fig. 1) plus ou moins ouvertes, parfois presque entièrement fermées. On trouve, pour le parasite du

platane et dans la nature, un passage très net des stroma conidifères aux conceptacles fermés.

Klebahn, en cultivant divers parasites du platane décrits comme des espèces différentes, a obtenu la même forme sur le même milieu, et a prouvé que le *Sporonema Platani*, à conceptacles fermés bien nets (fig. 3 et 4), était identique au *Glœosporium nervisequum* ou au *Discula Platani* à stroma conidifères en cupules plus ou moins fermées (1).

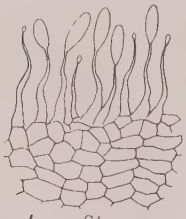

Fig. 4. — Stroma avec basides et spores du *S. Platani* de la fig. 3 (d'après H. Klebahn, G = 600/1).

Klebahn, en outre, a décrit la forme à périthèces (fig. 6) de l'Anthracnose du Platane, le *Gnomonia Veneta*, considérée jadis comme un type différent du *Glœosporium nervisequum*, dont ce *Gnomonia* est simplement la forme parfaite de reproduction.

La figure 6 représente, d'après Klebahn, les périthèces du *Gnomonia Veneta* observés sur une feuille de platane. Ces périthèces sont sphériques, immergés dans le tissu de la feuille et surmontés d'un col très allongé qui émerge. La cavité, sur la face opposée au col, est tapissée d'asques (fig. 5) peu allongées, sans para-

Fig. 5. — Asques du périthèce du *G. Veneta* (d'après H. Klebahn, G = 680/1).

(1) Les ensemencements sur milieux artificiels et les infections directes ont permis à Klebahn d'identifier les divers Champignons suivants du platane, considérés, jusqu'alors, comme des entités différentes :

Gnomonia Veneta (Sacc. et Speg.) Klebahn. — *Læstadia Veneta* Saccardo et Spegazzini. — *Aspiospora Veneta* Saccardo. — *Glœosporium nervisequum* (Fuckel) Saccardo. — *Fusarium nervisequum* Fuckel. — *Hymenula Platani* Léveillé. — *Glœosporium Platani* (Mont.) Oudemans. — *Fusarium Platani* Montagne. — *Glœosporium valsoideum* Saccardo. — *Myxosporium valsoideum* (Sacc.) Allescher. — *Hymenula ramulorum* Passerini. — *Discula Platani* (Peck) Saccardo. — *Discella Platani* Peck. — *Discella Platani* Oudemans. — *Sporonema Platani* Bäumler. — *Fusicoccum veronense* Massalongo.

physes, renfermant chacune huit spores, un peu irrégulières de contour, subpiriformes, avec petite cellule formant bouton à une de leur extrémité (fig. 7).

En ensemençant ces spores, Klebahn a obtenu, comme avec les conidies du *Glœosporium nervisequum*, les mêmes formes conidifères, et, avec ces mêmes formes conidifères, de deux origines différentes, il a reproduit la maladie, en ensemençant des feuilles de platanes, et il est même revenu aux périthèces du *Gnomonia Veneta*.

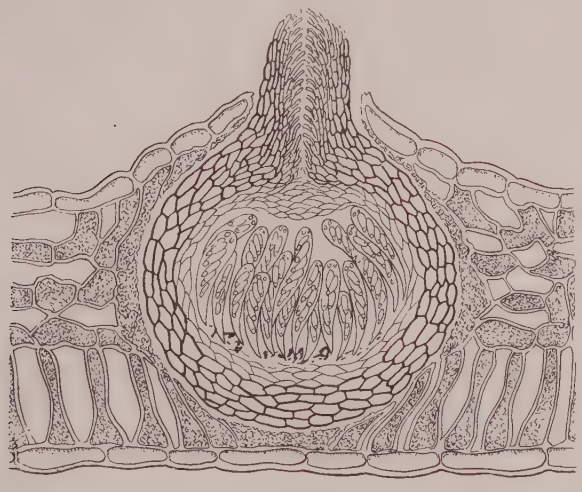

Fig. 6. — Coupe d'un périthèce de *Gnomonia Veneta*, forme à périthèces (asques) du *Glœosporium nervisequum*; ce périthèce est noyé dans les tissus d'une feuille de platane, avec son long col, et les asques insérées sur le fond (d'après H. Klebahn. G = 250/1).

Nous retiendrons de ces faits l'existence réelle, nettement démontrée, des périthèces du *Glœosporium nervisequum*. Rappelons aussi qu'en dehors de ces périthèces, Klebahn et d'autres auteurs ont constaté, comme autres formes de reproduction dans la nature, les stroma conidifères et une forme de conceptacles à spores semblables aux conidies des stroma;

En isolant et en cultivant le *Glœosporium* du Platane, sur les mêmes milieux, par les mêmes méthodes qui nous avaient servi pour le *Glœosporium* de la Vigne, nous avons observé, comme pour ce dernier, des *spermogonies* à spores semblables à celles des *stroma conidifères* de la nature. Nous avons obtenu aussi des *conidiophores* à spores encore identiques ; puis nos cultures nous ont donné des conceptacles à spores plus grosses que les spermaties (*pycnides*).

Fig. 7. — Spores des asques du périthèce du *G. Veneta* (d'après H. Klebahn.. G = 680/1).

Dans les milieux sucrés, le mycélium très cloisonné a donné progressivement des *levures ;* celles-ci, après bourgeonnements et sur des milieux appropriés, ont donné des *cellules durables.*

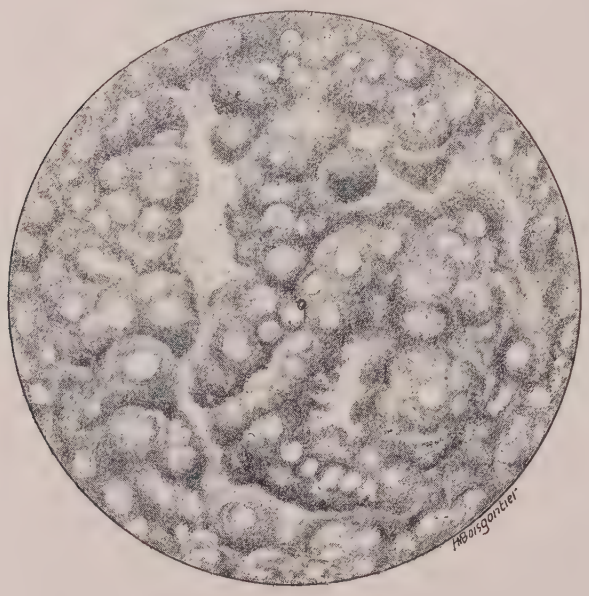

Fig. 8. — Trame mycélienne, à houppes conidifères, du *Glœosporium nervisequum*, en culture sur premier milieu gélosé à base de jus de feuille de platane (grandeur naturelle).

Au début de la fragmentation mycélienne, ou au moment du retour des levures au mycélium se produisent, d'énormes *cellules géantes*. Enfin, les levures encore actives et bourgeonnantes, transportées sur plâtre, ou en milieu épuisé, se sont transformées en *ascopores (spores endogènes)*. De même

Fig. 9. — Partie de la trame mycélienne de la fig. 8, à stroma sclérotique parsemé de houppes conidifères; la zone foncée est constituée par une lame dense sclérotique.

que pour le *Glœosporium* de la Vigne, nous avons observé, dans des milieux bien déterminés, des *kystes* à spores endogènes.

Les phénomènes évolutifs ont donc été identiques pour les deux espèces, mais les caractères individuels de ces divers organes présentent des particularités morphologiques que leur étude précisera.

Nous avons indiqué, dans notre Mémoire sur l'Anthracnose de la Vigne, l'influence prépondérante qu'avait le plus souvent, sinon toujours, la nature des milieux sur la produc-

tion de ces diverses formes. Il en est ainsi pour le *Glœosporium* du Platane. Les deux *Glœosporium* sont influencés de même façon par les mêmes milieux.

Conidiophores. — L'ensemencement du *G. nervisequum* dans les milieux primaires (Voir Mémoire I de l'Anthracnose : boîtes gélosées à base de jus de platane ou milieux ultérieurs, après fixation, en culture pure, du parasite), donne une trame légère qui s'étend progressivement en surface autour du point primitif d'ensemencement ; elle forme définitivement (fig. 8) un gazon dense, mamelonné, couvert de houppes serrées (fig. 9). Celles-ci sont constituées par les conidiophores développés sur un stroma sclérotique, dense et serré, composé de filaments enchevêtrés, assez variqueux, un peu brunis, qui ont succédé à de fins filaments hyalins primitifs, de calibre régulier.

Fig. 10. — Filament conidifère du *Glœosporium nervisequum*, en culture artificielle, avec spores et stérigmates (G = 400/1).

Ces conidiophores diffèrent un peu de ceux que nous avons signalés pour les *Glœosporium* de la Vigne. Ils sont du reste semblables à ceux obtenus par Klebahn en milieux artificiels. Le stroma conidifère des houppes est moins dense que sur les feuilles du platane (fig. 2). Les conidiophores mycéliens sont lâches, disjoints et les conidies se forment sur tout le parcours libre des filaments composants les houppes des gazons (fig. 10). Le tube mycélien fructifère, assez cloisonné, émet sur son pourtour, à des distances variées, des basides, fines ramifications en communication avec le tube, qui s'amincissent en pointe et portent le plus souvent une seule conidie. Parfois, mais rarement, la ramification se subdivise à son

sommet en deux ou trois basides ayant une spore chacune.

Ces conidies sont ovoïdes, allongées, irrégulières, à contenu hyalin et homogène, sans point réfringent, identiques en somme à celles des stroma conidifères des feuilles et des rameaux des platanes anthracnosés. Nous n'avons pas encore trouvé, comme pour la vigne, de macroconidiophores développés aux dépens des sclérotes denses de certaines cultures.

Fig. 11. — Conceptacles-spermogonies du *Glœosporium nervisequum*, sur haricot gélosé en tube, figurés par les petits points noirs (grandeur naturelle).

Spermogonies. — Les conceptacles-spermogonies sont pour le *G. nervisequum*, comme pour le *Glœosporium* de la Vigne, les organes le plus fréquemment obtenus en cultures artificielles, surtout lorsque le milieu solide ou liquide est peu ou pas acide. Ces conceptacles se forment très rapidement, au bout de deux ou trois jours, à une température de 25°; ils apparaissent sous forme de petits points, roux brunâtres, très serrés, à orientation régulière (fig. 11), surtout sur les grandes boîtes plates de culture où ils forment des cercles régulièrement concentriques, à rayons d'autant plus grands qu'ils sont plus écartés du point primitif d'ensemencement. Les cercles de ponctuations sont cependant un peu inégalement distants, comme s'il se produisait des

poussées successives de fructifications. Ce phénomène est d'ailleurs commun à beaucoup de Champignons cultivés artificiellement sur milieu solide. Le développement de ces conceptacles est identique, dans son évolution, à celui du *Glœosporium* de la Vigne, nous n'y reviendrons pas.

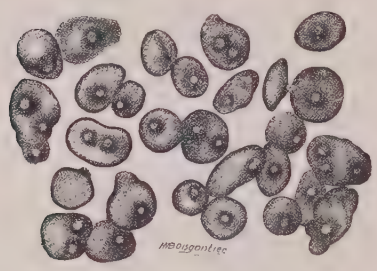

Fig. 12. — Conceptacles - spermogonies du *G. nervisequum*, provenant d'une culture en milieu artificiel (G = 40/1).

Ce sont, lorsqu'ils sont définitivement formés (fig. 12 et 13), des sphères plus ou moins régulières (210 μ à 280 μ), à membrane composée de deux ou trois couches de cellules aplaties, d'un brun assez foncé, portant le plus fréquemment une seule ostiole, ouverture sessile, un peu en rebord sur une partie de la paroi. Comme pour l'Anthracnose de la Vigne, quelques grosses spermogonies ont deux, trois, jusqu'à quatre et même cinq ostioles. On observe aussi, pour elles, quelques cas de monstruosités par déformation ou allongement de certaines parties ou encore par replis internes de la membrane. L'intérieur est tapissé par de fines basides, semblables à celles des conidiophores des cultures, mais plus courtes, très serrées et très nombreuses, portant à leur sommet des spores ou spermaties ovoïdes semblables aux conidies ordinaires (fig. 14). Quelques-unes de ces spores présentent, mais bien rarement, deux points réfringents. Leur nombre par conceptacle est considérable et, lorsqu'un grand nombre de fruits se vident, leurs spores donnent à l'ensemble de la masse un aspect rosé. La germination des conidies (nature ou culture) ou des spermaties ne présente rien de particulier. Elles émettent par une partie quelconque de leurs parois, le plus souvent par un de leurs pôles, un tube qui s'effile bientôt en un fin mycélium variqueux assez peu cloisonné.

Pycnides. — Dans les trames épaisses des vieilles cultures, sur lait gélosé par exemple, après une poussée active de spermogonies, la lame mycélienne, dense et épaisse, devenue noir foncé, produit d'autres pustules qui sont des pycnides. Ces pycnides (fig. 15), presque toujours à une

Fig. 13. — Spermogonies du *G. nervisequum* montrant la membrane pluricellulaire (G = 100/1).

seule ostiole, rarement à deux ou trois, ont une membrane pluricellulaire, noir foncé, épaisse, comme crustacée et cassante. L'ouverture de l'ostiole tranche beaucoup par sa teinte claire sur le fond très noir. Les pycnides sont immergées dans une lame épaisse de filaments mycéliens denses, sou-

vent soudés en sclérotes sur lesquels elles émergent. L'organisation interne de ces pycnides, qui mesurent 250 à 300 μ, est identique à celle des spermogonies. Les basides qui tapissent les parois internes portent des spores plus grosses, plus renflées, subovoïdes, à contenu homogène. Ces spores (fig. 16), ou stylospores, mesurent 8 μ sur 4 μ. Comme avec

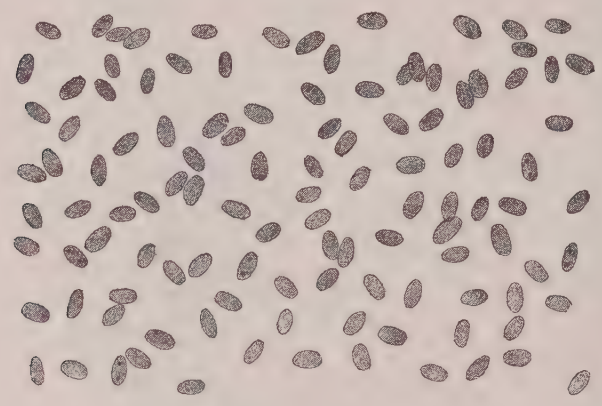

Fig. 14. — Spores-spermaties des spermogonies des cultures (fig. 12) du *G. nervisequum*, identiques aux spores des fig. 2 et 4. (G = 500/1).

l'Anthracnose de la Vigne on obtient, à volonté, — suivant le milieu physique ou chimique des cultures, — pycnides, spermogonies, ou conidiophores.

Kystes. — Nous avons étudié, dans notre Mémoire sur l'Anthracnose de la Vigne, l'évolution des Kystes du *Glœosporium ampelophagum* (*Manginia ampelina*), leur développement, et les milieux dans lesquels ils se produisent. Les phénomènes sont identiques pour les kystes du *G. nervisequum*. Il se forme une masse mycélienne qui, après une première poussée de spermogonies, noircit et s'épaissit. Le mycélium se cloisonne de plus en plus et prend une teinte fuligineuse foncée. Il augmente de diamètre en divers

points ; certains articles se renflent et sont l'origine des kystes (fig. 17).

Pour le *G. nervisequum*, comme pour celui de la vigne, les kystes sont ou monosporés ou plurisporés, à spores endogènes. Les monosporés sont très rares ; les polysporés, à nombre de spores variant entre deux et huit, sont les plus nombreux.

Ces kystes sont analogues à ceux du *Glœosporium* de la

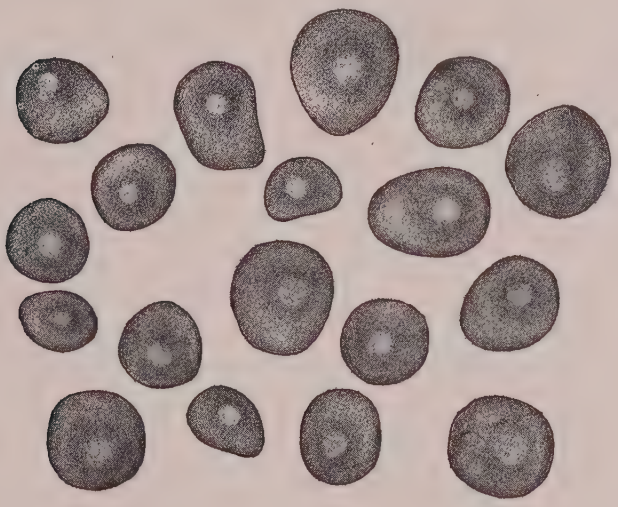

Fig. 15. — Conceptacles-pycnides du *G. nervisequum*, produits sur lait gélosé (G = 60/1).

Vigne, mais ils s'en distinguent cependant en ce que, de dimensions très irrégulières comme lui, leur membrane est plus épaisse, plus foncée, moins comprimée au niveau des spores endogènes. Cette membrane (fig. 18 et 19) a un caractère très nettement spécifique pour le *Glœosporium* du Platane. Elle est comme craquelée, rugueuse à la surface ; celle du *Glœosporium* de la Vigne n'est pas ornementée, elle est lisse.

Les kystes ont des dimensions variables, de 15 μ à 40 μ. Ils émettent leurs spores par éclatement de leur membrane

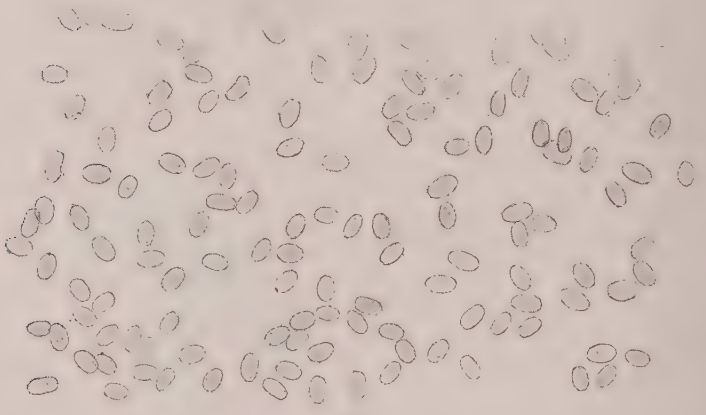

Fig. 16. — Spores-stylospores des conceptacles-pycnides de la fig. 15 (G = 500/1).

cassante. Ces spores (fig. 20) sont sphériques, ovoïdes, moins allongées que celles du *Glœosporium* de la Vigne, légèrement

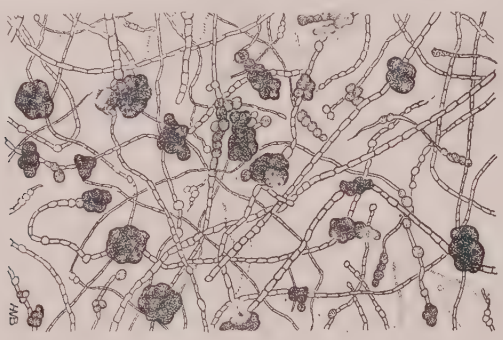

Fig. 17. — Trame mycélienne du *Glœosporium nervisequum* avec kystes (bouillons de riz ou de carotte acidifiés) (G = 150/1).

fuligineuses, à contour homogène, parfois incolores, à membrane propre, nettement distincte. Elles mesurent 8 à 10 μ

de long. Ces spores germent, souvent et directement, en tubes mycéliens, et, dans les milieux sucrés, en tubes très variqueux qui bientôt se fragmentent en levures.

Ainsi que nous l'avons dit pour le *Glœosporium* de la

Fig. 18. — Gros kystes polysporés du *Glœosporium nervisequum* (G = 500/1); A : Kyste à 3 spores encore jeunes; B : Kyste à 7 spores; C : Kyste à 4 spores; D : Kyste à 5 spores; E : Kyste à 8 spores; F : Kyste à 4 spores, vu de côté; G : Kyste à 6 spores; H; Kyste à 2 spores à membrane encore transparente; I : Kyste mûr à membrane granuleuse.

vigne, les kystes nous paraissent être des organes de reproduction se produisant dans les milieux défavorables à une végétation normale du Champignon, et défavorable tant par épuisement du milieu que par mauvaises conditions phy-

siques ou chimiques de celui-ci. Nous rappellerons à nouveau que, pour la vigne, l'on observe ces kystes dans la nature, seulement à la chute des feuilles et à l'automne. Les kystes nous paraissent être les organes de reproduction les plus résistants, plus résistants même que les périthèces. Nous verrons si ce n'est pas par cette forme kystique que peut se produire la transition des Champignons levurables aux levures sauvages.

Fig. 19. — Kyste mûr très grossi (800/1) pour montrer l'aspect rugueux et ornementé de la membrane.

Levures. — L'évolution, en milieux sucrés, du *Glœosporium* du Platane vers la fragmentation en articles, qui se séparent et bourgeonnent, se produit avec le même processus que nous avons décrit pour le *Glœosporium* de la Vigne.

Une fois cette fragmentation obtenue, si l'on continue les ensemencements en les renouvelant souvent dans les liquides sucrés (saccharose ou glucose) et en les rajeunissant fréquemment, la forme levure

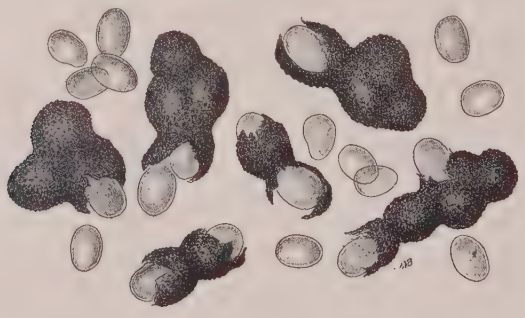

Fig. 20. — Kystes éclatés d'où sortent les spores endogènes (G = 550/1).

bourgeonnante (fig. 21) se fixe peu à peu et se maintient. Pour le *Glœosporium* du Platane, l'évolution vers la forme levure est plus rapide encore que pour le *Glœosporium* de la Vigne.

En pleine végétation, les levures du *G. nervisequum* mesurent 9 μ sur 7 μ. On trouve des variations de

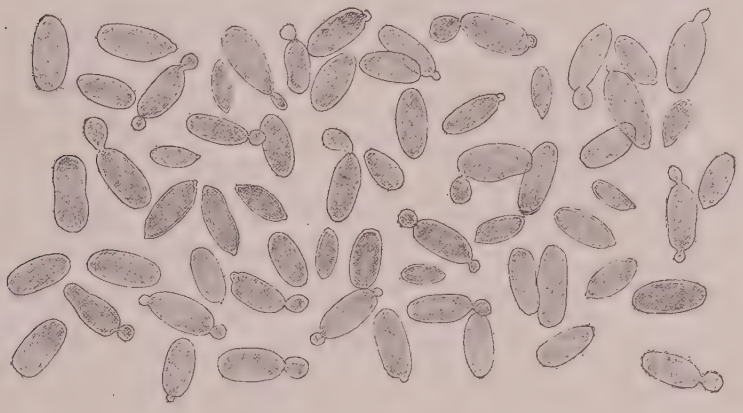

Fig. 21. — Levures du *Glœosporium nervisequum* (G = 1000/1).

dimensions assez grandes allant de 12 à 8 μ sur 7 à 4 μ, surtout au début ou à la fin d'une culture. Les formes normales les plus fréquentes sont plus ellipsoïdes que celles des levures du *Glœosporium* de la Vigne et moins apiculées. Elles sont plutôt ellipsoïdes cylindriques (fig. 21). Leur contenu est homogène, sans vacuoles ; elles sont grumeuses au début de l'apparition de la forme bourgeonnante, et un peu grumeuses au moment du bourgeonnement.

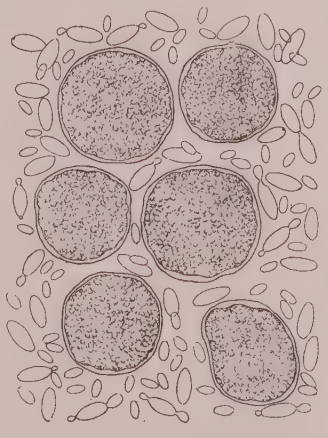

Fig. 22. — Cellules géantes et levures du *G. nervisequum* (G = 500/1).

La membrane est nettement visible, surtout dans les cellules les plus grumeuses. Le bourgeonnement se produit

toujours vers les pôles; le plus souvent sur un seul, mais assez fréquemment sur les deux. Par exception, on voit deux petits bourgeons se produire sur le pôle le plus large au voisinage l'un de l'autre. Ce sont de petits boutons bien sphériques qui grossissent peu à peu et séparent toujours une cellule fille avant qu'elle ait les dimensions de la cellule mère. Quelquefois cependant, la cellule fille grossit et bourgeonne avant de se séparer de la cellule mère et donne alors

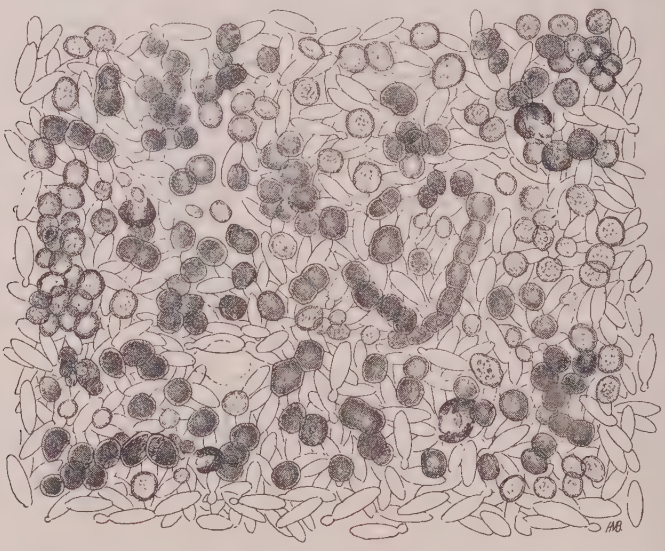

Fig. 23. — Cellules durables et levures du *G. nervisequum* (G = 600/1).

des cellules en saucisson (cas des levures hautes de brasserie). On peut trouver des files de deux, trois, quatre cellules restées en série.

Le cas le plus fréquent cependant est celui de la cellule unique, bourgeonnant à un seul pôle, et séparant bientôt la cellule fille.

Cellules géantes. — Les cellules géantes, que l'on observe surtout au début du bourgeonnement du mycélium fragmenté,

ou dans les vieilles cultures sur liquides, et encore sur milieu solide sucré (touraillon sucré gélatiné) sont très volumineuses par rapport aux levures. Elles mesurent (fig. 22) 20 à 30 μ et ont souvent un diamètre de trois à cinq fois plus grand que la longueur des levures ordinaires.

Irrégulières de forme, mais plutôt sphériques, leur membrane est vaguement onduleuse, d'épaisseur inégale; le protoplasme est très grumeux, mais homogène.

Dans bien des cas, le contenu laisse un vide plus ou moins grand entre lui et la membrane. Enfin, ces cellules géantes affectent parfois des formes très allongées ou très irrégulières; leur membrane est toujours incolore. Leur évolution se produit très irrégulièrement avec tendance au bourgeonnement dans les milieux sucrés, ou vers un mycélium variqueux sur les milieux solides. Mais, le plus fréquemment, ces cellules, — qui nous paraissent des cas plutôt pathologiques ou tératologiques, — se vident, surtout les plus grosses, en diffusant leur contenu. Nous les avons observées bien plus rarement que les cellules géantes de l'Anthracnose de la Vigne.

Fig. 24. — Chlamydospores du *Glœosporium nervisequum* (G = 500 fois).

Voiles, Cellules durables, Chlamydospores. — Les levures bourgeonnantes, cultivées en milieux sucrés et dans de grands récipients, forment, dans les liquides, au bout de

trente à quarante jours, des masses volumineuses et spumeuses. Celles-ci surgissent, peu à peu, à la surface et s'y étalent sous forme d'un *voile* très net, qui débute toujours sur les bords et gagne peu à peu le centre du liquide. Mais ce voile, comparable au voile des Mycodermes ou d'autres levures, ne couvre pas toute la surface comme le fait celui du *Glœosporium* de la Vigne. C'est à ce moment que l'on peut voir, en certains points, un assez grand nombre de cellules enveloppées dans un réseau gélatineux, tel que celui qui a été décrit par Hansen pour certains *Saccharomyces*. Si on fait dessécher cette masse gélatineuse, le réseau se distingue plus facilement.

C'est à la surface de ces voiles spumeux, au contact direct de l'air, et, le plus souvent, sur le bord du vase de culture, que se forment les *cellules durables* (fig. 23). Celles-ci évoluent lentement et finissent par recouvrir le substratum des levures d'une couche plus ou moins épaisse, à un, deux ou trois rangs superposés, couche qui noircit les voiles.

Les cellules durables se forment aux dépens des levures de surface les plus fortement impressionnées par l'air et la lumière. La cellule s'arrondit ; son protoplasme devient plus grumeux ; peu à peu, la membrane externe se fonce et devient définitivement d'un noir intense carbonacé. On trouve les divers stades de coloration, même dans les voiles les plus anciens. L'évolution la plus rapide vers la forme définitive est toujours longue (trente à quarante jours).

Les cellules durables (fig. 23) sont sphériques ou irrégulièrement sphériques, contrairement à celles du *Glœosporium* de la Vigne qui sont ovoïdes. Elles ont, comme celles-ci, une double membrane : celle interne incolore, la membrane externe d'un noir carbonacé et cassante. Le contenu protoplasmique, assez grumeux au début, est homogène et incolore avec quelques granulations au centre dans la cellule mûre.

Les cellules durables sont, le plus souvent, isolées, parfois agglomérées. Leurs dimensions varient peu, elles sont en

moyenne de 10 à 12 μ ; on trouve cependant quelques cellules moitié plus petites. Quelquefois aussi, mais bien plus rarement que dans le cas du *Glœosporium* de la Vigne, on observe quelques cellules doubles. Enfin, dans les masses spumeuses de levures très anciennes, où la forme mycélienne se manifeste assez nettement, on aperçoit des chapelets de cellules durables accolées (fig. 23).

A cet état, les chapelets de cellules durables sont semblables aux *chlamydospores* (fig. 24).

Ces chlamydospores, si fréquentes pour l'Anthracnose de la Vigne, aussi bien sur les vieux chancres que dans les cultures du *G. ampelophagum*, sont moins abondantes pour le *G. nervisequum*. Leur origine est d'ailleurs différente de celle des cellules durables. En effet, les chapelets de chlamydospores se développent toujours dans les vieilles cultures mycéliennes de *Glœosporium* en milieu épuisé, surtout si ce milieu est légèrement acide.

La forme ne permettrait pas de distinguer facilement une chlamydospore isolée d'une cellule durable. Celle-ci est un peu plus grosse, plus sphérique ; la chlamydospore est plus polygonale. L'évolution ultérieure de ces deux organes, presque semblables et d'origines diverses, les différencie nettement.

La cellule durable du *G. nervisequum*, si on la met sur milieu sucré, rompt sa membrane externe ; la cellule interne en sort entourée de sa membrane interne incolore. Celle-ci évolue en bourgeonnant successivement, et en donnant des cellules presque rondes, unies d'abord en chapelets et qui, bientôt, se séparent en levures ellipsoïdes ordinaires. Ces premiers chapelets, si la cellule durable est ensemencée en milieu acide, peuvent évoluer peu à peu vers la forme mycélienne.

Les chlamydospores émettent toujours directement un tube fin qui continue à se développer en mycélium, ne se fragmentant qu'assez tardivement, même en milieu sucré.

On voit, parfois, les cellules d'un même chapelet de chlamydospores émettre, toutes à la fois, leurs fins tubes mycéliens, groupés sur l'axe comme les barbes d'une plume.

Sporulation des levures. — Un des phénomènes les plus intéressants que nous ayons observés pour le *G. ampelophagum* de la Vigne est celui de la sporulation des levures. Et cette sporulation d'une levure d'un vrai Champignon filamenteux n'est pas un cas exceptionnel, puisque le phénomène est identique pour la levure du *G. nervisequum* du Platane. La formation endogène des spores dans la levure du *G. nervisequum* se produit en effet abondamment dans les vieilles cultures de levures, surtout dans les dépôts qui sont en masse au fond des vases.

Cette formation de spores endogènes, dans les milieux que les levures ont épuisés, a été rarement signalée pour les *Saccharomyces*; elle est cependant plus fréquente qu'on ne le pense (1). On obtient aussi la sporulation des levures du *G. nervisequum* en les transportant, lorsqu'elles sont en voie de plein développement, sur plâtre, sur papier buvard, etc.

La formation des spores n'est pas très rapide. Elles apparaissent seulement dès le quatrième ou le cinquième jour à 25°.

Les levures en voie de sporulation ont un protoplasme plus granuleux et plus dense que celui des levures ordinaires. Elles sont plus renflées, et ont parfois une dimension double des plus grosses levures. Les segmentations protoplasmi-

produit lorsque le protoplasme remplit encore entièrement la cellule.

Les cellules sporulées ont des formes un peu variées

(1) Nous ne rapporterons qu'un fait relatif aux vins d'Anjou et de Touraine, mousseux naturellement. Les bouteilles contiennent des dépôts que l'on ne dégorge jamais; ces dépôts, constitués par des levures qui ont produit la mousse de ces vins, renferment quantité de cellules nettement sporulées, surtout dans les vins liquoreux de quatre ou cinq ans d'âge.

(fig. 25 et 26); elles sont elliptiques, renflées le plus souvent, parfois un peu déformées; elles mesurent en moyenne 13 μ sur 9 μ, et varient de 16 à 9 μ sur 10 μ à 8 μ. Quand elles sont mûres, un vide existe toujours entre la membrane générale et les spores internes; c'est d'ailleurs un fait assez fréquent chez les *Saccharomyces*.

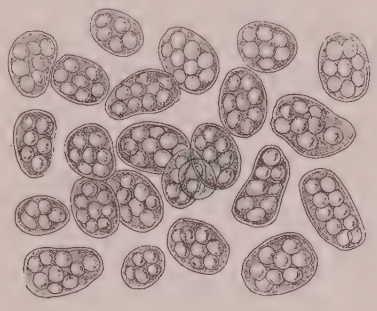

Fig. 25. — Levures sporulées du *Glœosporium nervisequum* (G = 1000/1).

Les spores endogènes (fig. 27) sont nettement sphériques, à membrane propre, à contenu homogène, réfringent; elles ont 3 μ de diamètre. Mais, tandis que les cellules sporulées du *Glœosporium* de la Vigne renferment seulement de une à trois spores endogènes, celles du *Glœosporium* du Platane en renferment un nombre plus considérable; on peut même dire un très grand nombre. On a signalé pour certains types de *Saccharomyces Pastorianus* (formes I, II, III de Hansen) un nombre de spores endogènes variant de quatre à douze. Dans la levure sporulée du *G. nervisequum*, le nombre de spores endogènes varie autour de huit, chiffre le plus fréquent, et va jusqu'à dix; rares sont celles qui n'en renferment que deux ou trois.

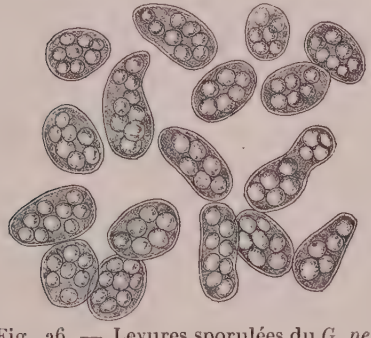

Fig. 26. — Levures sporulées du *G. nervisequum* (G = 1000/1).

Quand les levures sporulées sont mûres, les spores endogènes (ascospores) sortent par résorption ou gélification de la membrane, et on les trouve parfois réunies en très

grand nombre. Elles évoluent en milieu sucré, sous forme de petites levures, qui prennent, peu à peu, par multiplications successives, les dimensions normales.

Fonctions. Origine et retour mycéliens de la levure. — De même que pour le *Glœosporium* de la Vigne, la levure du *Glœosporium* du Platane ne nous a donné que 1 °/₀, au maximum, d'alcool, sans dégagement apparent d'acide carbonique, et cela au bout d'un mois.

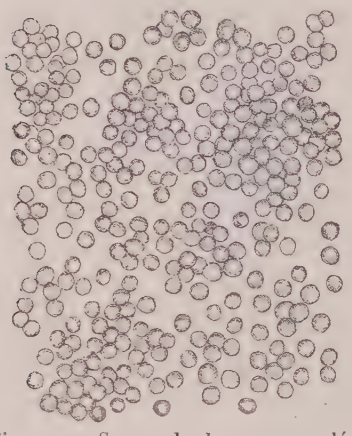

Fig. 27. — Spores des levures sporulées (ascospores) du *G. nervisequum* (G = 1000/1).

Si l'on fait disparaître l'alcool du milieu, ou si l'on reporte les levures, arrêtées dans leur bourgeonnement, dans un nouveau liquide sucré, une nouvelle dose d'alcool de 1 °/₀ se produit. Si on maintient les levures dans un liquide de culture alcoolisé à 1 °/₀, le bourgeonnement cesse ; les voiles s'accentuent, s'épaississent, et les cellules durables apparaissent à leur surface au contact de l'air. Nous rappelons que, comme pour l'Anthracnose de la Vigne, si à des cultures jeunes de levures de *G. nervisequum*, nous ajoutons des doses progressives d'alcool jusqu'à 1 °/₀, à cette dose les voiles se forment, s'épaississent, et les cellules durables apparaissent. Au-dessus de 1 à 1,5 °/₀, et même 2 °/₀, tout développement cesse, mais les levures ne meurent pas. Il n'est pas dit qu'on ne puisse, avec le temps, les acclimater progressivement à des doses plus élevées d'alcool.

Le côté délicat de nos recherches, au point de vue expérimental, était de bien démontrer la filiation des levures et

des divers organes du *G. nervisequum*. En partant d'une cellule de levure ou d'une conidie, il était indispensable d'obtenir les divers organes du Champignon ou les divers états de la levure. Nous avons repris, dans ce but, les mêmes méthodes de culture qui nous avaient servi pour le *G. ampelophagum*.

Nous avons isolé tout d'abord des cellules uniques, spermaties et levures, à l'aide des méthodes usitées pour la purification et l'isolement des *Saccharomyces* (cultures sur plaques après dilution, cultures en chambre humide sur lames quadrillées).

Les spermaties, par exemple, isolées dans des tubes de touraillon gélatiné se développent seulement à la surface de la masse nutritive ; elles forment des taches aranéeuses, identiques aux premiers stades des autres Moisissures. Les jeunes colonies de levures du *G. nervisequum*, plus abondantes en surface, se développent aussi en profondeur dans la gélatine ; elles donnent des colonies lenticulaires, blanc-grisaille, à contours moins précis que les mêmes colonies des levures alcooliques industrielles.

Une fois en possession de ces cultures pures, issues les unes d'une *spermatie unique*, les autres d'une *cellule de levure unique*, nous avons cherché à reproduire toutes les formes du *G. nervisequum*, en faisant varier les milieux de culture et les conditions physiques.

Sans développer davantage l'exposé de nos nombreuses séries variées de culture, nous dirons que le passage des spermaties aux levures bourgeonnantes est très rapide (milieu liquide de touraillon sucré, non acide). Au contraire, le retour au mycélium et, à la suite, aux conceptacles, est très long si l'on part des cultures de levures bourgeonnantes en pleine activité, et, cela, même si la levure bourgeonnante provient des premières séries résultant des spermaties.

Cette transition au mycélium par la levure est toujours longue et la phase levure en chapelets, avec bourgeonne-

ments irréguliers (fig. 28), persiste beaucoup. L'orientation définitive vers le mycélium peu variqueux et fin n'a lieu qu'après plusieurs passages et un temps long. Ce mycélium fin continue d'ailleurs lui-même à l'état mycélien pur pendant plusieurs cultures et ne s'oriente vers les formes à conceptacles que tardivement.

Fig. 28. — Levures du *G. nervisequum* en retour mycélien (G = 1000/1).

Pendant les premières séries mycéliennes, le Champignon semble être en équilibre instable et avoir tendance à retourner à la levure. Une fois le mycélium fixé, la fructification en conceptacles n'est provoquée que si, avec des milieux nutritifs convenables, on réalise en même temps des variations brusques des conditions physiques (lumière, chaleur, etc.). Cette première fructification une fois obtenue, elle se continue dans les cultures successives aux conditions ordinaires. Ces observations précisent ainsi le retour mycélien des levures et complètent les premières données que nous avons fournies pour le *Glœosporium* de la vigne (1).

(1) Nous reviendrons plus tard sur d'autres moyens d'accentuer le retour des levures au mycélium et aux fructifications de celui-ci au moyen de cultures combinées avec divers autres organismes et surtout avec des bactéries non liquéfiantes sur milieux solides.

Asques levures, Asques périthèces. — Les spores endogènes des deux *Glœosporium* que nous avons cultivés et étudiés sont incontestablement de même nature et de même ordre biologique que ce que l'on appelle ascospores pour les *Saccharomyces*. On les obtient dans les mêmes conditions de sporulation que pour ces dernières ; formes, développement, influence du milieu, rien ne les différencie. Il est vrai qu'on peut nous objecter que nous n'avons pas observé dans notre formation de spores des *Glœosporium* une fusion des noyaux, constatée et affirmée pour la sporulation des *Saccharomyces* des fermentations alcooliques les plus actives, fusion considérée comme une vraie fécondation au même titre que certains phénomènes qui précèdent, dans les Champignons ascomycètes, le développement des périthèces. Cette objection est-elle fondée? y a-t-il vraiment fécondation? Nous ne discuterons pas le fait pour l'instant.

Nous n'insisterons pas non plus sur l'opinion qui pourrait faire admettre que les levures sporulées sont des cas d'enkystement par division préalable des noyaux, analogues à ceux des kystes. Les kystes seraient pour l'état mycélien des *Glœosporium* ce que sont les spores endogènes pour la levure, comme les chlamydospores seraient au mycélium ce que sont les cellules durables à la levure. Kystes et levures sporulées, chlamydospores et cellules durables seraient des organes de résistance maximum, produits dans des conditions de vie défectueuse pour l'espèce.

On pouvait admettre, à la suite de notre travail sur le *Glœosporium* de la Vigne, pour lequel nous n'avons pu obtenir jusqu'à ce jour de vrais périthèces, que les spores endogènes des levures représentaient la forme ascosporée, les périthèces, du *Manginia ampelina*. Le fait eût été sans doute bien surprenant; mais cette interprétation est inadmissible avec le *Glœosporium* du Platane.

Les observations et les expériences de Klebahn, que nous avons rapportées, sont probantes. Il a démontré d'une façon

indiscutable que les périthèces du *Gnomonia Veneta* appartiennent bien au *G. nervisequum*. Voilà donc un Champignon qui a des périthèces avec des asques à huit spores, des stroma conidifères, des conceptacles à stylospores et à spermaties, des chlamydospores, des kystes, et, en outre, des levures vraies bourgeonnantes, des cellules durables et enfin des spores endogènes en tous points semblables à ce que l'on appelle des ascospores chez les *Saccharomyces*.

Nous ne pouvons donc voir d'analogie morphologique vraie entre les spores endogènes des levures et les asques des périthèces. Une fusion des noyaux, interprétée comme acte de fécondation, ne serait pas suffisante pour asseoir une analogie biologique. La sporulation endogène des levures (levures alcooliques, levures sauvages, mycolevures, mycodermes, etc.) nous paraît donc un phénomène de développement indépendant de celui des périthèces.

Origine des levures. — Les premières recherches que nous avons publiées sur le *Glœosporium* de la Vigne (*Manginia ampelina*) nous paraissaient éclaircir certaines données sur l'origine des levures. Nous disions, dans notre deuxième Mémoire (1) sur l'Anthracnose de la Vigne : « Dans son livre *Etudes sur la bière*, où il développe la question de l'origine des levures (pages 150 et suivantes), Pasteur figure (planche 9, A à F) des formes absolument comparables à celles des kystes naturels des sclérotes de l'Anthracnose ou des kystes des cultures en milieux artificiels, et dans les figures B, C, E, F, est représentée leur germination directe en levure par un processus comparable à celui que nous avons observé. Cette opinion de Pasteur, sur l'origine des levures dérivées des Champignons, admise pendant quelque temps, a été rejetée à la suite des travaux de De Bary, Hansen, etc., et l'on a admis qu'avec les organes d'où Pasteur avait

(1) *Loc. cit.*, page 35.

cru voir provenir les levures, se trouvaient de vraies levures mélangées, ces organes étant probablement ceux du *Dematium pullulans*, les levures vraies formant des entités spécifiques indépendantes du Champignon filamenteux. »

Cette question a été d'ailleurs très clairement exposée, dans ce sens, par E. Duclaux, dans son *Traité de Microbiologie* (III, pp. 88 à 91); nous croyons devoir le reproduire textuellement :

« La première idée de Pasteur avait été de croire que les levures passaient l'hiver à un état différent, sous forme d'un de ces végétaux microscopiques, connus pour être en toute saison répandus partout, et dont certaines parties, certains organes se transformeraient en levure par voie naturelle, au moment où se trouveraient réalisées, sur leur habitat ou autour d'elles, les conditions nécessaires à cette nouvelle forme de développement...

« Sous la pression de cette idée, il avait étudié au microscope l'eau de lavage des raisins, et il n'avait pas tardé à y découvrir, à côté de spores appartenant à des moisissures vulgaires, des groupes de cellules d'aspect dur, jaunâtre, à double enveloppe, fréquemment présentes sur les grains, plus fréquemment encore sur le bois de la grappe. Ces cellules, déposées dans une goutte de moût de raisin stérile, se ramollissent, se distendent, deviennent de plus en plus translucides et incolores, et, en même temps, on voit se former autour d'elles, par voie de bourgeonnements successifs, toute une famille de jeunes cellules présentant les formes des cellules de levure, en présentant aussi les propriétés...

« Cette description rappelle tout à fait les observations faites par de Bary sur une espèce très répandue, un *Dematium* dont les articles mycéliens, d'ordinaire plus ou moins allongés, se garnissent, au voisinage de leurs articulations, d'une véritable collerette de petites cellules ovales, douées de la faculté de se détacher et de proliférer à leur tour. De Bary n'avait pourtant pas voulu y voir des levures, et nous devons convenir aujourd'hui qu'il avait raison. L'expérience de Pasteur prouvait qu'il y avait des levures mélangées au Dematium, mais ne prouvait pas que les levures venaient du Dematium. Contre cette conclusion s'élevaient en outre, et quelques résultats de Pasteur, et surtout ceux de Chamberland...

« Ce procès, qui semblait jugé, a été rouvert par M. Jörgensen qui accepte bien la conclusion que les cellules de la collerette des Dematium ne sont pas des levures. Elles en sont, d'après lui, seulement les ascendants, et elles peuvent se transformer en levures par un procédé beaucoup plus compliqué, dont un des éléments essentiels est la culture, non sur un moût sucré, mais sur des raisins conservés au voisinage de 20°. C'est contre cette

conclusion que se sont élevés, avec raison, je crois, M. Hansen d'abord, puis et surtout MM. Klöcker et Schiönning, qui ont essayé de toutes les façons possibles de faire dériver une levure authentique, soit du *Dematium*, soit d'une autre espèce voisine le *Cladosporium herbarum*. *Ils n'ont jamais vu naître de Saccharomyces formant des endospores, quelle que fût la variété des conditions de culture offertes aux Dematium :* cultures pures en milieux divers, sur des fruits mûrs ou non mûrs, en nature libre, ou dans des serres...:

« Les résultats de MM. Klöcker et Schiönning ont été à leur tour confirmés par Seiter, qui, en ensemençant deux *Dematium* différents sur des fruits stérilisés par une méthode particulière, n'a pas réussi à retrouver les faits signalés par Jörgensen. M. Seiter a aussi répété les essais de MM. Eckenroth et Hermann, qui avaient cru à la transformation d'un *Penicillium* en levure. En se servant des matériaux même envoyés par ces savants, il n'a pas pu reproduire leurs résultats.

« A la suite de leurs essais, MM. Klöcker et Schiönning ont cherché, en sens inverse, à transformer des *Saccharomyces* en Champignons supérieurs, en les mettant autant que possible dans les conditions qu'ils peuvent rencontrer dans la nature. Ils n'ont pas réussi. Bien qu'un fait négatif ne soit jamais probant, nous n'en sommes pas moins autorisés à conclure, jusqu'à nouvel ordre, que les Saccharomyces sont des organismes indépendants, et qu'ils ne proviennent pas des végétations cryptogamiques... » (1)

Ainsi donc, une des objections principales à la possibilité de l'origine des levures aux dépens des Champignons filamenteux réside surtout dans le fait qu'on n'a jamais obtenu la sporulation endogène de leurs levures. Il en a été ainsi pour les *Dematium*, *Hormodendron*, *Cladosporium*, *Torula*, *Monilia*, etc., etc., toutes formes bien différentes des *Glœosporium*.

Cette objection essentielle n'existe plus, puisque les deux espèces de *Glœosporium* que nous avons étudiées donnent facilement des ascospores. Il est vrai que l'on n'a pu encore réaliser, comme nous l'avons fait pour les levures des

(1) Dans son Mémoire *Recherches cytologiques sur les levures* (1902), M. A. Guilliermond conclut de même : « Ces observations, dit-il, nous renseignent sur la valeur de l'asque des levures que l'on doit considérer comme une forme supérieure de ces Champignons, qui paraissent devoir être définitivement maintenus parmi les Ascomycètes. Ainsi sembleraient closes les longues discussions débattues entre Brefeld, de Bary, Pasteur, Hansen, sur l'origine des levures et réveillées dans ces dernières années par de nouvelles observations de Jœrgensen ».

Glœosporium, les retours, par des cultures méthodiques et rigoureuses, des levures industrielles aux Champignons filamenteux ; mais, ainsi que le dit Duclaux : « un fait négatif n'est jamais probant », et il ne nous paraît aucunement acquis que les résultats négatifs qui ont été constatés soient définitifs.

Il n'est pas inutile de rappeler la difficulté considérable que nous avons eue pour revenir (jusqu'à un an et deux ans) des formes levures de *Glœosporium* aux filaments mycéliens et aux organes de reproductions (conceptacles ou conidiophores) ; le retour a été d'autant plus lent que les levures rajeunies étaient plus anciennes. Le retour au mycélium, — s'il est réalisable, — des levures industrielles, constamment rajeunies et indéfiniment fixées, doit donc être d'une grande difficulté à réussir, si même cette faculté n'est pas annihilée ou, en tous cas, conservée à un état latent très difficile à ébranler et à disjoindre.

L'opinion généralement admise, d'après les travaux de Hansen, est que les levures de fermentation alcoolique hivernent dans le sol et sont ensuite transportées sur les fruits, surtout au moment de leur maturation. Elles peuvent passer l'hiver dans l'intestin des animaux, des insectes hibernants (Berlese, Boutroux, Cordier, Neumayer, etc.) et après avoir été disséminées par divers agents (vents, insectes butinants, etc.,) se multiplier au printemps en nouvelles colonies sur les nectaires sucrés des fleurs.

Nous nous demandons cependant si l'observation première de Pasteur, qui faisait dériver les levures de formes absolument comparables à celles des kystes ou des cellules durables, n'est pas réelle, et, si beaucoup de levures sauvages n'ont pas comme première origine des organes analogues aux kystes, qui sont d'une résistance considérable à toutes les mauvaises conditions atmosphériques. En tous cas, nos recherches nous paraissent remettre à nouveau à l'étude la question de l'origine des levures, même industrielles, aux dépens des Champignons filamenteux.

III. — ASCOCHYTA PISI

Tous les Champignons filamenteux ne nous paraissent évidemment pas susceptibles de donner des formes levures. De nombreux travaux ont prouvé que beaucoup d'*Aspergillus*, de *Mucor*, etc., donnaient des levures; pour aucun d'eux, comme nous le disions, la sporulation n'a été constatée. Nous serions plutôt portés à croire que peu de Champignons sont en réalité susceptibles de donner des formes levures. Nous cultivons, depuis longtemps, des espèces parasites du groupe des Ascomycètes qui ne sont pas très éloignées des deux *Glœosporium* que nous avons étudiés, tels le *Guignardia Bidwellii*, le *Charrinia diplodiella*, le *Dematophora necatrix*, le *Rœsleria hypogea*, etc., etc. Nous n'avons jamais obtenu de formes levures comparables à celles des *Glœosporium ampelophagum* et *nervisequum*.

Nous reviendrons plus tard sur une forme voisine de ces dernières, le *Glœosporium* ou *Colletotrichum Lindemuthianum* Saccardo; mais, parmi les types que nous avons étudiés, en vérification de nos recherches sur l'Anthracnose de la Vigne, nous retiendrons une espèce qui, par les allures extérieures et les phénomènes pathologiques, est tout à fait comparable au *Gl. ampelophagum*.

L'*Ascochyta Pisi* Lib. ou *Glœosporium Pisi* Oud., ne peut se distinguer, en effet, de l'Anthracnose des Haricots (*Glœosporium Lindemuthianum)* qu'au microscope. Il attaque les haricots, les pois et diverses légumineuses. Sur les gousses, il forme des taches oculaires plus ou moins étendues ou plus ou moins profondes et tout à fait comparables aux chancres des raisins verts de l'Anthracnose de la Vigne. Les seuls organes que l'on ait observés dans la nature sont des conceptacles à basides internes portant des spores doubles.

Par les mêmes méthodes, nous avons isolé, et cultivé ensuite, ce parasite sur les milieux expérimentés pour le *Glœosporium nervisequum* et le *Glœosporium ampelophagum*. Nous avons obtenu facilement des conceptacles iden-

tiques à ceux de la nature et des formes conidifères non encore signalées pour cette espèce. Les conceptacles se produisent aussi facilement, dans les mêmes conditions de milieux, que les conceptacles de l'Anthracnose de la Vigne et du Platane.

Ces conceptacles (fig. 29), très nombreux, sont gros, ovoïdes, ils mesurent 250 à 390 μ et sont pourvus le plus souvent d'une seule ostiole, parfois de deux ou trois. Ces ostioles forment un rebord assez épais. La membrane des concep-

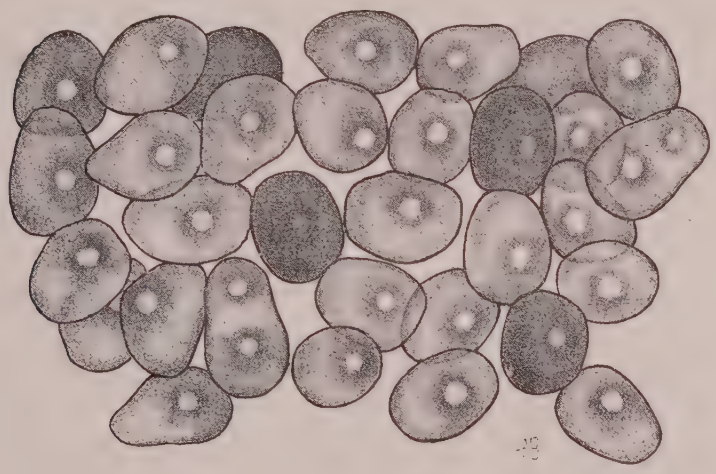

Fig. 29. — Conceptacles d'une culture d'*Ascochyta Pisi* (G = 60/1).

tacles est d'un noir assez foncé, quadrillé, pluricellulaire. Toute la paroi interne est tapissée par de fins basides incolores qui portent à leur sommet des spores très nombreuses qui, lorsqu'elles sont vues en masses, ont un aspect rosé comme les spermaties des *Glœosporium ampelophagum* et *nervisequum*.

Ces spores (fig. 30) sont doubles, (10 à 14 μ sur 3 μ 5), ou très rarement à deux cloisons, et dans ce cas triples. Elles sont cylindriques, allongées, parfois un peu réniformes.

Leur membrane est incolore, hyaline; leur contenu protoplasmique est régulièrement grumeux. Elles germent en émettant, par chacun des éléments, un tube mycélien fin, de calibre régulier. Ce mycélium, en pleine poussée, est cloisonné, mais les cloisons sont assez distantes et ne présentent que fort peu de rétrécissements à leur niveau.

La forme conidifère (fig. 31), que nous avons obtenue sur milieux solides et liquides, aux dépens de trames mycéliennes épaisses couvertes comme d'un gazon à

Fig. 30. — Spores des conceptacles de la fig. 29 de l'*A. Pisi* (G. = 600/1).

leur surface, est assez analogue à celle du *Glœosporium* du Platane. Les tubes conidifères sont peu serrés, lâches, cloisonnés, avec basides se détachant latéralement, simples ou doubles ; celles-ci produisent à leur sommet des spores doubles un peu moins allongées que celles des conceptacles, mais, comme elles, à membrane incolore, hyaline, à protoplasme homogène. Ces spores ensemencées sur des milieux favorables à la formation des conceptacles (lait gélosé, jus de haricot sucré et gélosé) donnent ces derniers.

L'*Ascochyta Pisi* a été porté dans les mêmes milieux sucrés, avec ou sans acide (carotte sucre acide, bouillon de riz, jus de haricot sucré, touraillon sucré, etc.), dans lesquels avec les *Glœosporium* nous obtenons les kystes ou les levures. Jusqu'à maintenant, et malgré de nombreux passages successifs, nous n'avons pu obtenir ni levures, ni kystes. Le maximum de fragmentation mycélienne constaté est représenté par la figure 32.

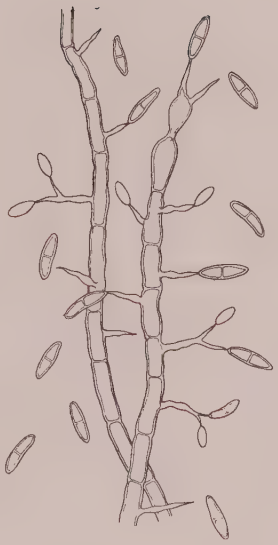

Fig. 31. — Filaments conidifères et conidies d'une culture d'*A. Pisi* (G = 600/1).

Il n'est pas dit, sans doute, que des cultures en séries plus éloignées des premiers ensemencements ne finiront pas par

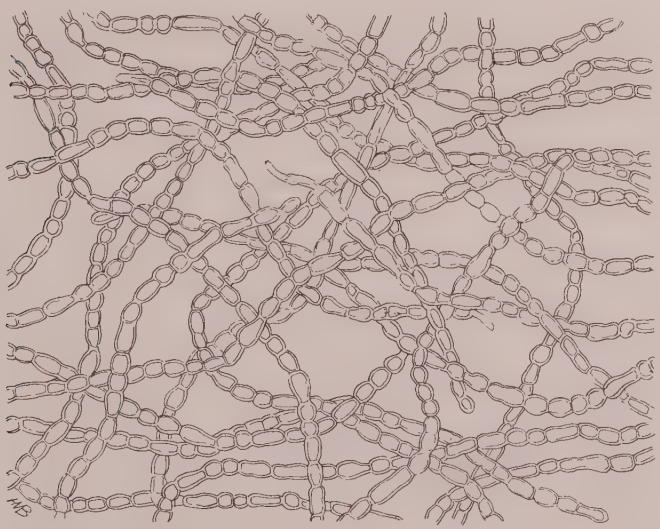

Fig. 32. — Filaments mycéliens très cloisonnés d'*A. Pisi*, en milieu très sucré (G = 500/1).

donner peut-être des fragmentations vraies du mycélium ou même des levures. Il ne paraît pas, en tous cas, en être ainsi pour l'instant, sur des séries cependant éloignées de l'ensemencement originel par des multiplications successives depuis dix mois, et malgré que nous ayons réalisé nos cultures dans les milieux sur lesquels nous obtenions si facilement et si vite les formes levures et les formes kystes pour les *Glœosporium nervisequum* et *Glœosporium ampelophagum*.

(*1er Février 1906.*)

P. Viala et P. Pacottet.

N. B. — Pendant l'impression de ce Mémoire, M. P. Vuillemin, professeur à la Faculté de médecine de Nancy, a donné dans la Revue générale des Sciences (15 mars 1906), une étude magistrale sur *Le Problème de l'origine des levures*, après avoir vérifié, dans notre laboratoire, les premiers faits que nous avions exposés pour le Glœosporium de la Vigne. Cette étude de M. P. Vuillemin élargit et complète cette importante question, si controversée, de l'origine des levures.

BIBLIOGRAPHIE

Barker : On the spore formation among the Saccharomycetes, (Journal of the Federated Institutes of Brewing, vol. VIII, 1902).

A. de Bary : Morphologie und Biologie der Pilze (page 293, 1884).

J. Beauverie : *In* Ann. Soc. bot. Lyon, 1901, et C. R. A. S., 22 juillet 1903.

Berlese : Rivista di patol. vegetale (t. V. 1897).

Beyerinck : Schizomyces octosporus. (Cent. f. Bakt. u. Parasitenk, vol. XVI, 1894, p. 49). — Ueber Regeneration der Sporenbildung bei Alkoholhefen. (Centr. f. Bakt. U. Parasitenk, 2me partie, t. III et IV.)

Brefeld : *In* Nach. a. d. Club d. Landw. z. Berlin (1888).

Chamberland : Thèse (p. 61).

Comes : Crittogamia agraria. (1881, p. 424.)

M. Cornu : *In* Journal de botanique (1886).

Coupin (H.) : Influence du potassium sur la morphologie du Sterigmatocystis nigra. (Revue générale de botanique, 1903).

Dangeard : Sur la structure des levures et leur développement. (C. R. Ac. Sc. 3 Juillet 1893).

Duclaux (E.) : Traité de Microbiologie. (t. III, 1900).

Guilliermond (A.) : Recherches sur la sporulation des Schizosaccharomycètes. (C. R. Ac. Sc. 22 Juillet 1901). — Recherches cytologiques sur les levures et quelques moisissures à formes levures (Thèse de doctorat ès sciences 1902, Lyon). — Recherches cytologiques sur les levures. (Revue générale de botanique, 1903). — Recherches sur la germination des spores et la conjugaison chez les levures (Revue gen. de Botanique, 1905). — La morphologie et la cytologie des levures (Bullet. Institut Pasteur, mars 1905 et mars 1906).

Janssens et Leblanc : Recherches cytologiques sur la cellule de levure. (La cellule, t. XIV, et suivants).

Joergensen : Les microorganismes de la fermentation (2me édition, 1899).

Juhler : Ueber die Umbildung des Aspergillus oryzæ in einen Saccharomyceten (Centr. f. Bakt., 1895).

Hansen : Nouvelles recherches sur la circulation du Saccharomyces apiculatus dans la nature. (Ann. d. sc. nat. Botanique, VII. Série T. XI, 1890. — Ann. de Microg. Paris, 1898). — Kritische Untersuchungen über einige von Ludwig und Brefeld beschriebene Oïdium und Hefeformen (Botan. Zeit. 1892). — Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten. (Cent. f. Bakt, XII, 1904.)

Hoffmeister : Zum Nachweise des Zellkernes bei Saccharomyces (Carlsberg, IV, 1895).

KAYSER : Microbiologie agricole (Paris, 1905). — Les levures (2me édition, Paris, 1905).

KLEBAHN : Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen (Leipzig, 1905).

KLOCKER et SCHIONNING : Meddeleser fra Carlsberg Laboratoriet (1881 à 1896 et vol. IV, fasc. 2, 1896), et divers in Comptes rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg, 1896 à 1906.

LECLERC DU SABLON : Sur une maladie du Platane (Rev. gén. de botanique. 1892).

LINDER : Mikroskopische Betriebscontrolle in den gärungswerben (Berlin, 1895, p. 163).

M. LÉGER : Recherches sur la structure des Mucorinées (Poitiers, 1895).

LINDNER (P.) : Die ascosporen und ihre Beziehungen zur Konstanz des Hefenrassen (1887).

LOW (E.) : Ueber Dematium pullulans (Pringheim's Jahrb. Bd VI).

MAIRE (R.) : Note sur le développement saprophytique et sur la structure cytologique des sporidies levures chez l'Uredo maydis. (Bull. de la Soc. mycol. de France, 1898).

MARTINAND et RIETSCH : Des microorganismes que l'on rencontre sur les raisins mûrs et leur développement pendant la fermentation. (Compt. rendus Ac. d. Sc., Paris, 1891).

MATRUCHOT (L.) et MOLLIARD (M.) : Recherches sur la fermentation propre. (Revue générale de botanique, 1903).

MOELLER : Ueber den Zellkern und den Sporen der Hefe. (Ber. d. deutsch. Gesellsch., 1893).

PASTEUR : Etudes sur la bière (p. 150, pl. 9, 1876).

PRILLIEUX : Maladies des plantes (t. II, p. 320).

ROESS (MAX.) : Botanische Untersuchungen (Leipzig, 1870).

ROUX et LINOSSIER : Recherches morph. sur le Champignon du Muguet. (Archives de médecine expérimentale, 1890).

SACCARDO : Sylloge Fungorum (III).

SAPPIN-TROUFFY : Recherches histologiques sur les Urédinées. (Thèse de doctorat de la Faculté des Sciences de Paris.)

SCHIÖNNING : Nouvelle et singulière formation d'ascus dans une levure (Carlsberg., IV, 1895).

SEITER : Studien über die Abstammungg der Saccharomyceten (Bayer. Brauer. Journal IV, 1896).

SORAUER : Pflanzenkrankeiten (II, p. 424).

SOREL : Comptes rendus (t. c. XXI, 1895). — Etude sur l'Aspergillus oryzæ (C. R. Ac. sc. t. LXXXI, 1894, p. 948).

TULASNE : Selecta Fungorum Carpologia, III.

VAN TIEGHEM et LE MONNIER : Recherches sur les Mucorinées, (Ann. des sc.

nat. Bot., 5me série, t. XVII, 1873). — Nouvelles recherches sur les Mucorinées, (Ann. des sc. nat. Bot., 6me série, t. I, 1875).

Viala (P.) et Pacottet (P.) : Sur la culture et le développement de l'Anthracnose (C. R. A. d. S., 1er Février, 1904). — Anthracnose I. Sur la culture et le développement de l'Anthracnose (avec 1 planche en couleur et 10 fig. dans le texte ; Revue de viticulture, 10 Juin 1904). Anthracnose II. Nouvelles recherches sur l'Anthracnose. Levures, Kystes, formes de reproduction et de conservation du Manginia ampelina (avec 8 planches et 85 figures dans le texte ; Revue de viticulture, 24 Sept. 1905). — Sur les levures sporulées de Champignons à périthèces (Glœosporium) (C. R. A. S., 19 Février 1906). — Sur les kystes des Glœosporium et sur leur rôle dans l'origine des levures. (C. R. A. S., 26 Février 1906).

Vuillemin : Etudes biologiques sur les champignons. (Bull. de la Soc. des sc. de Nancy, 1886). — Le Champignon du Muguet (C. R. A. s. 1898). Les formes du Champignon du Muguet (Revue mycologique, 1899). — Les Blastomycètes pathogènes (Revue générale des Sciences, 1901). — Le Problème de l'origine des levures (Revue générale des Sciences, 15 mars 1906).

Wehmer (C.) : Unabhängigkeit der Mucorinengärung von Sauerstoffabschluss und Kugelhefe (Berl. der deut. Bot. Ges. XXIII, 1905). - Versuche über Mucorinengärung (Cent. f. Bakt. XIV, 1905).

Will : Vergleichende Untersuchungen an vier unter gorigen Arten von Bierhefe (Centr. f. Bakt. Bd II, 1896). — Bemerkungen zu der Mitteilung von Casagrandi ueber die Morphologie der Blastomycetes (Cent. f. Bakt, 2me partie IV).

Zalesky : Ueber sporenbildung in Hefezellen. (Verhandl. d. Naturhist. uereins d. preuss Rheinlande V. Wesfalens, 1880).

NOTE

sur l'installation de la Station de Recherches viticoles pour la culture des parasites de la vigne

Pour répondre au désir qui nous a été exprimé, nous donnons quelques indications sur l'organisation que nous avons dû créer dans notre laboratoire pour poursuivre les recherches expérimentales sur les maladies de la vigne, recherches dont les premiers résultats ont été exposés dans divers Mémoires (1).

Ces travaux n'ont pu être poursuivis que grâce à une subvention du Ministère de l'agriculture, sollicitée par de hautes influences, et grâce surtout à une allocation accordée généreusement depuis plusieurs années par la Caisse des Recherches scientifiques, instituée auprès du Ministère de l'Instruction publique, grâce encore à l'aide matérielle donnée par la *Revue de Viticulture*. Les modiques ressources du crédit annuel de notre laboratoire auraient été bien insuffisantes pour poursuivre ces travaux une fois la méthode trouvée. Avec ces crédits *extraordinaires*, nous avons pu installer une salle de culture spécialement aménagée et faire construire des appareils nouveaux.

(1) L. Mangin et P. Viala : Sur la Phthiriose de la vigne causée par le *Dactylopius Vitis* et le *Bornetina Corium* (Comptes rendus. Académie des Sciences, 9 février 1903). — L. Mangin et P. Viala : Sur un nouveau groupe de Champignons « Les Bornetinées » et sur le *Bornetina Corium* de la Phthiriose de la vigne (Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 29 juin 1903). — L. Mangin et P. Viala : La Phthiriose de la vigne (Mémoire de 112 pages avec 5 planches et 55 figures). — P. Viala et P. Pacottet : Culture des maladies de la vigne : Black-Rot, Pourridié, etc., (*Revue de Viticulture*, 3 décembre 1903). — P. Viala et P. Pacottet : Sur les verrues des feuilles de la vigne (Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 18 janvier 1904). — P. Viala et P. Pacottet : « Les « Verrues de la Vigne » (Mémoire avec planche et 5 figures. *Revue de Viticulture*, t. XXI). — P. Viala et P. Pacottet : Sur la culture du Black-Rot (Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 1er février 1904). — P. Viala et P. Pacottet : Sur la culture du Black-Rot ; Influence des acides et du sucre (*Revue de Viticulture*, 4 février 1904, et Mémoire avec figures). — L. Mangin et P. Viala : Nouvelles recherches sur la Phthiriose de la vigne et sur le Bornetina Corium (Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 22 février 1904). — L. Mangin et P. Viala : Phthiriose II (Mémoire avec 2 planches et 6 figures et *Revue de Viticulture*, t. XXI). — P. Viala et P. Pacottet : Cultures de l'Anthracnose et forme levure (*Revue de Viticulture*, 24 juin 1904).— P. Viala et P. Pacottet : Cultures du Champignon de l'Anthracnose en milieux artificiels (*Revue de Viticulture*, 30 juin 1904). — P. Viala et P. Pacottet : Sur la culture et le développement du Champignon cause de l'Anthracnose de la vigne (Comptes

Les matériaux d'étude et de fabrication des milieux de culture, que nous n'aurions pu trouver aux états qui étaient nécessaires, nous ont été fournis, dès le début de nos recherches et d'une façon continue, par les Forceries de la Seine, créées à Nanterre par la maison O. Decugis et fils. Cet important établissement, qui comprend 89 serres, est surtout consacré au forçage des vignes; les cépages y sont variés et la conduite de la culture est dirigée de telle façon que l'on a, à peu près toute l'année, des vignes à toutes les époques de la végétation et surtout de l'évolution des fruits. Les matériaux tels que feuilles, rameaux jeunes, raisins, nous sont fournis en abondance et aux états convenables pour la préparation des milieux. Le forçage des raisins hâtifs ou la conduite des raisins tardifs nous ont permis, pour la même variété, d'avoir, quand nos expériences l'exigeaient, le même jour, la même variété de vignes à tous les états de développement du fruit, depuis la floraison jusqu'à la maturité ou la surmaturation, conditions qu'on ne peut évidemment réaliser dans le vignoble. La maison O. Decugis a toujours mis très libéralement à notre disposition son établissement pour nos diverses études, nous lui en sommes particulièrement reconnaissants.

Les échantillons de vignes attaquées par les diverses maladies ont été récoltés dans les vignobles français et dans ceux de l'étranger au moment où l'état de développement des divers parasites permettait leur culture artificielle. Ils nous ont été adressés aussi en envois successifs, pendant plusieurs années, par MM. Cazeaux Cazalet et Capus, Chauzit, L. Vincent, Duchein, Guillon, G. Lavergne (Chili), Marès (Algérie), Perrier de la Bathie, Prunet, Sécrétan, Tallavignes, etc., par le département de l'Agriculture de Washington, de l'Australie etc. Nous les remercions tous pour la peine qu'ils ont bien voulu prendre en répondant à nos demandes et en se conformant aux instructions qui leur étaient données.

rendus de l'Académie des Sciences, 4 juillet 1904). — P. Viala et P. Pacottet : Sur le développement du Black-Rot (Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, 11 juillet 1904). — P. Viala et P. Pacottet : Anthracnose-I, Sur la culture et le développement de l'Anthracnose (Mémoire avec 2 planches et 9 figures, et *Revue de Viticulture*, t. XXII). — P. Viala et P. Pacottet : Sur la fécondation artificielle de la vigne (Mémoire avec planche et 7 figures, et *Revue de Viticulture*, t. XXII). — P. Viala et P. Pacottet, Black-Rot II : Sur le développement du Black-Rot ; Réceptivité des fruits. Influence de la température, de l'humidité et des milieux toxiques (Mémoire et *Revue de Viticulture*, t. XXII). — L. Mangin et P. Viala : La « Gomme des raisins » (*Revue de Viticulture* avec planche, en couleurs, 5 janvier 1905). — L. Mangin et P. Viala : Sur le *Stearophora radicicola*, Champignon des racines de la vigne (Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 29 mai 1905). — L. Mangin, P. Viala, A. Charrin et A. Le Play : Le *Steorophora radicicola* (Brochure avec 1 planche et 11 gravures, juin 1905). — P. Viala et P. Pacottet : Nouvelles recherches sur l'Anthracnose de la vigne, II : Levures, kystes, formes de reproduction et de conservation du *Manginia ampelina* (Mémoire de 69 pages avec 85 figures dans le texte et 7 planches, 24 septembre 1905 et *Revue de Viticulture*, 1905-1906).

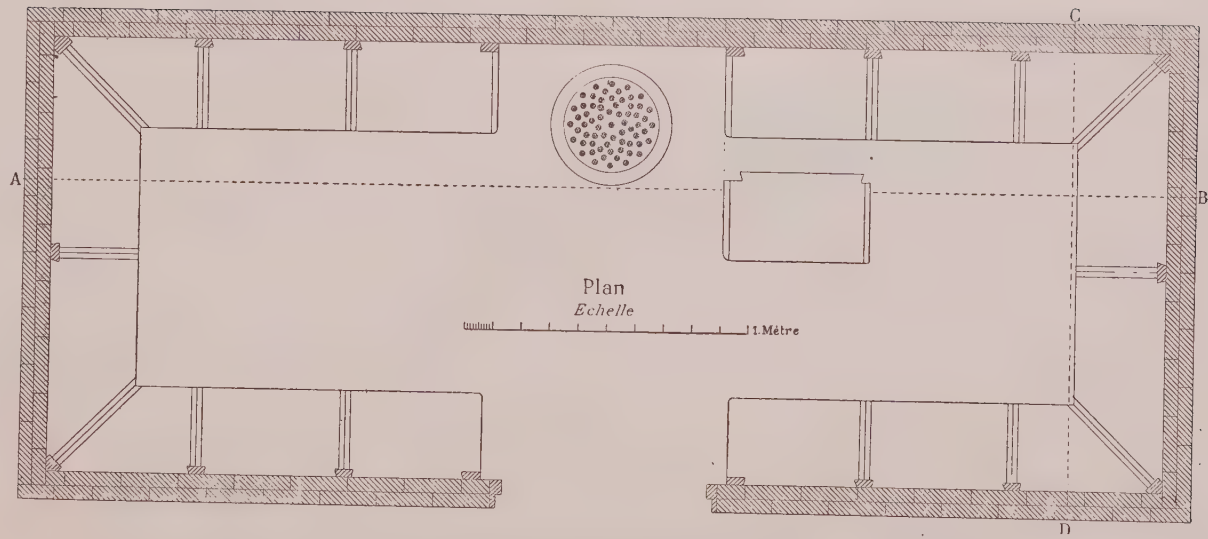

Fig. 33. — Salle de cultures (plan).

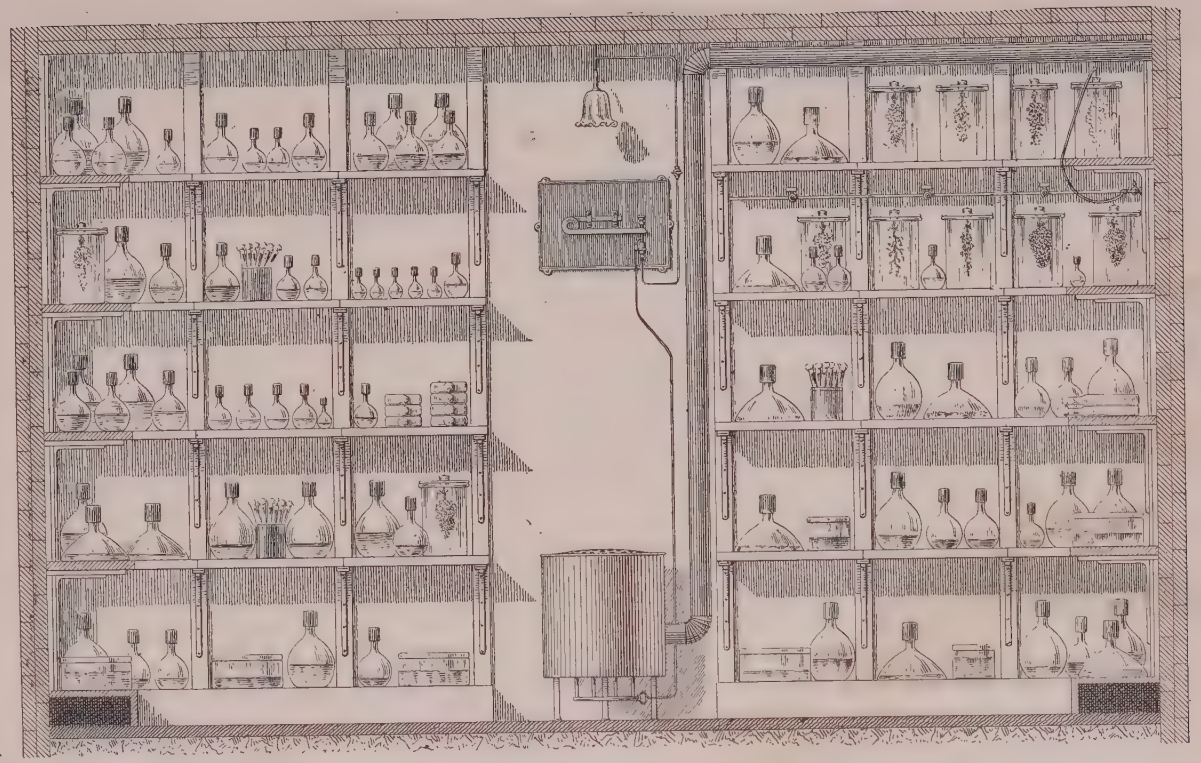

Fig. 34. — Salle de cultures, coupe suivant A B de la fig. 33.

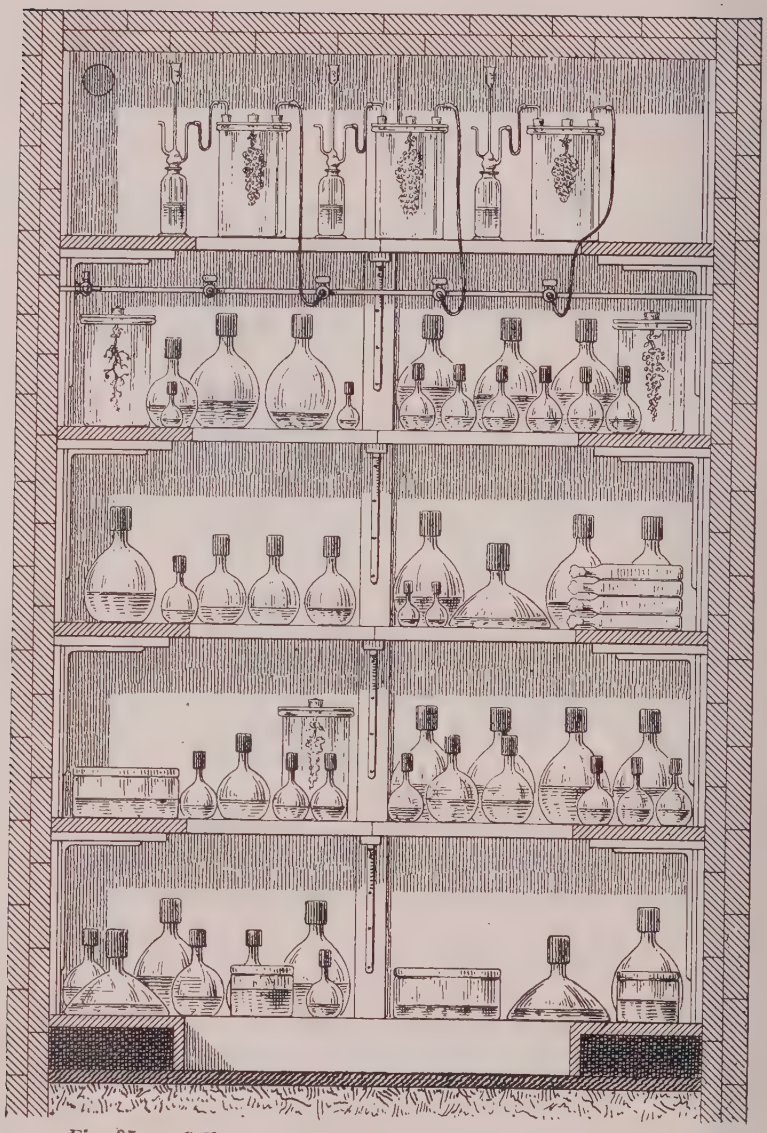

Fig. 35. — Salle de cultures, coupe suivant CD de la figure 33.

Les cultures en laboratoire ont été conduites tout d'abord dans les étuves de Roux et de Schribaux, et dans deux étuves construites sur nos indications pour des températures supérieures à 40°, ou disposées pour faire agir différemment la lumière ordinaire ou la lumière colorée. Une cave et une serre, la mise à notre disposition par la maison O. Decugis de chambres frigorifiques, ont aidé à nos travaux.

Mais les très nombreuses cultures comparatives qui étaient nécessitées pour certaines séries de recherches, l'étude sur ces cultures des milieux physiques variés (humidité, sécheresse, action des gaz, etc.) ont exigé une installation, sur un type nouveau, d'une assez grande salle étuve (fig. 33, 34, 35), à température fixe, et dans laquelle on put rassembler quantités de récipients de dimensions variées qui nous étaient nécessaires. Les recherches sur l'Anthracnose, par exemple, poursuivies pendant plus de trois années, de même que celles sur le Black-Rot, ont exigé la mise en marche simultanée de nombreuses séries se totalisant parfois par près d'un millier de récipients.

Dans la salle étuve, la température est maintenue constante entre 24 et 26 degrés par un poêle spécial à triple enveloppe (poêle Adnet) pourvu d'un régulateur automatique de température Roux. L'amenée du gaz a lieu par un tuyautage en cuivre et l'élimination des produits de la combustion est obtenue complète par un tirage énergique au moyen d'un tuyau fixé sur le poêle même.

La chambre étuve a $4^{m}60$ de long sur $2^{m}75$ de large et $2^{m}25$ de hauteur. Elle est entièrement entourée par d'autres salles du laboratoire ; les parois latérales et le plafond sont constituées par un double rang de briques de lièges de $0^{m}14$ d'épaisseur posées sur champ et noyées dans le plâtre qui les recouvre sur les deux faces (couche de 3 centimètres). Une forte porte en chêne ferme la salle de culture. Elle est percée, sur chacun des deux ventaux, d'une ventouse réglable pour favoriser le renouvellement de l'air.

A l'intérieur, la salle de culture est garnie sur ses parois de cinq rangs d'étagères, à $0^{m}45$ de distance les unes des autres. Ces étagères sont portées par des montants en chêne distants les uns des autres de $0^{m}35$ vissés dans les parois et allant du plancher asphalté au plafond. Les étagères reposent sur des supports en fer encastrés sur chaque montant, et l'on peut facilement les enlever ; ces étagères sont constituées par des planchettes de $0^{m}30$ de large sur $0^{m}55$ long. Elles sont entourées sur leur pourtour par une bride de chêne qui les empêche de se voiler. Elles sont retenues sur les montants à coupe oblique par un angle rentrant. On peut les enlever par séries quand on a de gros récipients à mettre en observation.

Sur la moitié de la salle, à droite, est installée, entre la quatrième et la cinquième étagère, une rampe de prise de vide avec robinets distants les uns des autres de $0^{m}50$ (fig. 35). La canalisation correspond dans une salle voi-

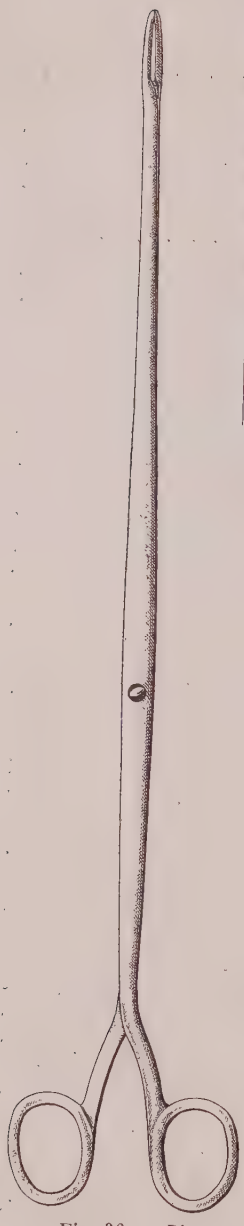

Fig. 36. — Pince (réd. 1/2).

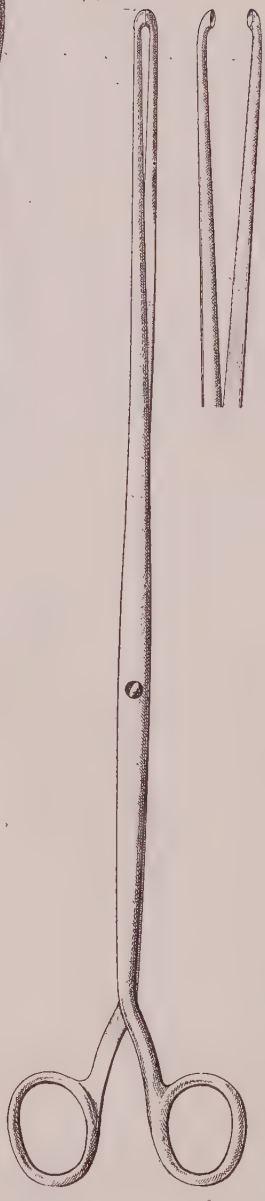

Fig. 37. — Pince-curette (réd. 1/2).

Fig. 38. - Curette (réd. 1/2).

sine, à deux trompes Golaz. La pièce est éclairée par un bec Auer retourné. Elle est aérée par cinq bouches d'aspiration, l'une circulaire autour du tuyau d'élimination du poêle à gaz ; quatre autres aux quatre coins de la pièce. Les murs, les tablettes, sont peintes au ripolin à deux couches appliquées sur deux couches préalables de peinture ordinaire. On peut laver facilement les murs et les étagères avec des liquides antiseptiques. Thermomètres enregistreurs et thermomètres ordinaires sont disposés nombreux et à divers niveaux.

Les cultures en milieux artificiels sont faites dans les récipients variés usités en microbiologie. Pour l'étude de l'action des Champignons sur les milieux nutritifs et pour l'obtention de grosses masses mycéliennes, qui seules donnent certains corps reproducteurs, nous devons employer des matras d'une grande capacité.

Les voiles ou les trames mycéliennes qui se feutrent parfois sur une épaisseur de trois à quatre centimètres et qui forment un bloc continu sont difficilement dissociés par les fils de platine. Il faut en outre parfois prélever des points isolés ou bien dissocier et sectionner certaines parties pour l'étude microscopique. Pour ces prélèvements, lorsque le fil de platine ne peut pas être utilisé, nous avons dû avoir recours à divers appareils que nous avons fait construire par la maison Colin : pince (fig. 36), pince-curette (fig. 37), curette (fig. 38), ciseaux (fig. 39). La stérilisation préalable de ces appareils en acier nickelé est obtenue par les procédés ordinaires (four, autoclave, alcool).

Ces appareils ont une longueur totale de 33 centimètres. L'écrou de la pince et de la pince-curette sont à 10 centimètres des anneaux. Les branches, en acier très résistant, sont très rigides.

Fig. 39. — Ciseaux de culture (réd. 1/2).

La pince-curette porte, au sommet des deux branches, deux curettes ovales, creuses, et coupantes sur les bords, de $5^{m}/^{m}$ dans le grand axe. Elles

s'appliquent exactement l'une contre l'autre et permettent de détacher des fragments sans les écraser.

La pince du même type est terminée par deux mors plats, lisses. La

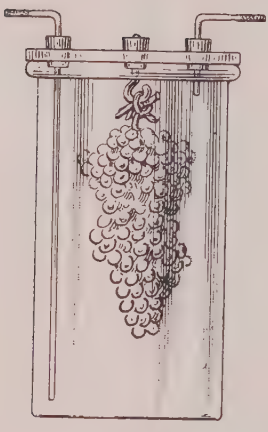

Fig. 40. — Conserve pour cultures (réd. 1/2).

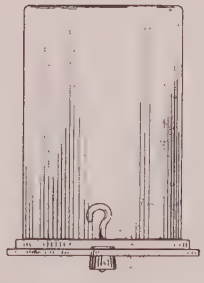

Fig. 41. — Conserve pour cultures (1/2).

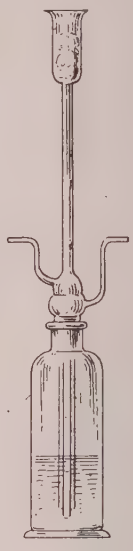

Fig. 42. - Barbotteur (réd. 1/2).

curette est une tige très fine terminée par un évidement en cuiller ovale coupante sur les bords. Les ciseaux sont formés de deux lames très effilées et très coupantes ; l'écrou est à 20 centimètres des anneaux.

Les inoculations des parasites dans le laboratoire sont faites sur fruits, sur rameaux ou sur feuilles dans des récipients blancs ou colorés construits à cet effet (maison Adnet). Les plus grandes de ces conserves cylindriques ont $0^{m}30$ de haut, $0^{m}15$ de diamètre et mesurent cinq litres. (fig. 40 et 41).

L'ouverture circulaire est finement rodée et fermée par un couvercle très épais en verre, rodé sur toute sa surface. Dans le cas de l'emploi d'un vide partiel ou d'aération spéciale, une lame de caoutchouc et des pinces fixent le couvercle. Celui-ci est percé, en son centre, d'une ouverture circulaire que ferme un bouchon en caoutchouc portant un crochet en verre pour suspendre les végétaux à inoculer. Les conserves où l'on modifie l'atmosphère sont, en outre, percées de deux trous obstrués par des bou-

chons de caoutchouc dans lesquels passent des tubes en verre coudé, l'un pénétrant jusqu'au fond de la conserve, l'autre engagé seulement à quelques centimètres. On peut déterminer ainsi un renouvellement de l'atmosphère de bas en haut ou de haut en bas.

Dans le cas d'une faible aération, les conserves ordinaires sont munies simplement d'une douille, à leur partie inférieure, obstruée par un tampon de coton ou un bouchon de caoutchouc garni d'un tube de verre fermé lui aussi par du coton. Barbotteurs (fig. 42), appareils à production de gaz, dessiccateurs, etc., complètent l'installation.

P. V. et P. P.

IMP. JULES MOREAU, ARGENTEUIL.